



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Caracterización Teórica de la Estructura de Cembranos con Actividad *Antifouling*

Lucy Johana Jiménez González

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia

Caracterización Teórica de la Estructura de Cembranos con Actividad *Antifouling*

Lucy Johana Jiménez González

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magíster en Ciencias - Química

Director:
Dr.Sc., Edgar E. Daza C.

Grupo de Química Teórica

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia

*El colapso del universo estelar
ocurrirá -como la Creación-
con majestuosa belleza.*

Blaise Pascal

Resumen

Este trabajo propone el estudio de una serie de compuestos del tipo cembrano con actividad biológica *antifouling*, por medio de los descriptores electrostáticos: cargas parciales atómicas empíricas (Gasteiger-Marsili) y cargas parciales atómicas derivadas de la función de onda (Mulliken), los cuales permiten describir propiedades moleculares como la reactividad y algunos parámetros estructurales como la estereoquímica. Para descubrir regularidades o patrones en esta serie de cembranos, se usaron técnicas de agrupamiento que permitieron clasificar este conjunto de moléculas de acuerdo a sus atributos y que generaron clases o grupos que se relacionan con la estereoquímica que exhibe la estructura química de estos compuestos.

Esta clasificación también muestra un grupo de compuestos en particular se caracterizan por ser activos biológicamente en el ensayo de inhibición de *quorum sensing* y en el ensayo de inhibición de formación de biopelícula de bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus*. Las características químicas estructurales que presenta este grupo de cembranos están bien definidas, y permitió proponer las estructuras de 7 nuevas moléculas que al ser incluidas nuevamente en la clasificación obtenida de la serie original (serie de entrenamiento) se observa que 6 de estas nuevas estructuras se agrupan en el cluster bien definido de compuestos que tienen actividad antifouling.

De esta manera, el trabajo presentado en esta tesis logra no sólo hallar una clasificación que permite atribuir características que describen relaciones estructurales y de actividad entre los grupos de la serie de cembranos, sino que también permite predecir sin conocimiento previo o experimental, compuestos con posible bioactividad.

Palabras clave: Cembranos, actividad *antifouling*, agrupamiento jerárquico, relación estructura actividad, inhibición *quorum sensing*, inhibición de formación de biopelícula.

Abstract

This work proposes the study of a series of compounds with known biological antifouling activity through electrostatic descriptors: empirical atomic partial charges (Gasteiger-Marsili) and atomic partial charges derived from the wave function (Mulliken) that are associated

with molecular properties as reactivity and some structural parameters as stereochemistry. To discover particular properties of this cembranoids set we use clustering techniques that enable this set of molecules be classified according to classes or set attributes according to the stereochemistry groups exhibiting chemical structure of these compounds.

This classification also gives group of compounds which are characterized by being biologically active in the inhibition of *quorum sensing* and inhibition of biofilm formation by Gram positive bacteria strain *Staphylococcus aureus*. The structural features presented by this well-defined group in clusters, lets to propose 7 new structures to be considered. When these new structures are considered together with the original cembranoid set (training set), 6 of them are classify now in the group of molecules having antifouling activity.

Thus the work presented in this thesis does not just find a classification that allows attribute characteristics that describe structural and activity relationships between groups cembranoids set but also predicts no prior knowledge or experimental compounds with potential bioactivity.

Keywords: Cembranoids, antifouling activity, clustering hierarchical, structure activity relationship, inhibition of *quorum sensing*, inhibition of biofilm formation.

Contenido

Resumen	vii
1. Introducción	1
2. Estado del arte	4
2.1. Cembranos y actividad <i>antifouling</i>	4
2.1.1. <i>Biofouling</i>	4
2.1.2. Cembranos	7
2.2. Cargas parciales atómicas	8
2.2.1. Cargas parciales Gasteiger-Marsili	9
2.2.2. Cargas parciales Mulliken	10
2.2.3. Aplicaciones	11
2.3. Potencial electrostático molecular	12
2.4. Índices de reactividad	13
2.5. <i>Clustering</i> o agrupamiento	14
2.6. Análisis de componentes principales	16
3. Metodología	17
3.1. Optimización de la geometría	17
3.2. Cargas parciales	17
3.3. Clasificación de cembranos	17
3.4. Análisis de componentes principales	18
3.5. Potencial electrostático molecular	18
3.6. Índices de reactividad	18
4. Caracterización estructural	20
4.1. Cargas parciales	20
4.1.1. Análisis de componentes principales	26
4.1.2. Estereoquímica	29
5. Funcionalización	32
5.1. Bioactividad	32
5.2. Criterios para la funcionalización	33

5.3. Clasificación de los cembranos propuestos por la funcionalización en el conjunto de prueba	35
6. Reactividad química	37
6.1. Potencial electrostático molecular	37
6.1.1. Representación gráfica del PEM	37
6.1.2. TARIS (Tree Analysis and Representation of Isopotential Surfaces) .	40
6.2. Índices de reactividad	44
7. Conclusiones y recomendaciones	48
7.1. Conclusiones	48
7.2. Recomendaciones	49
A. Anexo	50
A.1. Cargas parciales	50
A.2. Análisis de componentes principales	52
A.3. Dendrogramas de cargas parciales para la serie inicial de 21 cembranos incluyendo los compuestos propuestos por funcionalización	54
Bibliografía	63
Referencias	63

1. Introducción

La búsqueda de compuestos activos biológicamente, ha llevado a diversos grupos de investigación a incursionar en nuevas fuentes como lo son los organismos marinos. Así, el grupo de investigación “Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia” de la Universidad Nacional de Colombia, en el marco del proyecto de investigación Mejoramiento de bioactividad de productos naturales marinos: semisíntesis y modelamiento molecular, busca compuestos con actividad *antifouling* a partir de reconocer que algunos organismos marinos mantienen su superficie limpia, entre los que se destacan los octocorales del Caribe colombiano.

El *fouling* se entiende como un proceso complejo en el cual se da la acumulación de material particulado, microorganismos, plantas y animales sobre superficies sumergidas (Yebra, Kiil, y Dam-Johansen, 2004). Este proceso inicia al momento de la inmersión, donde se da la adhesión de glicoproteínas y otros compuestos a la superficie, seguido del *microfouling*, asentamiento de bacterias, diatomeas y protozoos, los cuales favorecen o acondicionan la superficie para el posterior asentamiento de esporas de algas y larvas de invertebrados que conforman el macrofouling (Fusetani, 2011).

Para disminuir los efectos adversos del *fouling*, se han utilizado recubrimientos con acción biocida derivados de estaño y cobre que, aunque lo disminuyen, generan problemas ambientales debido a su alta toxicidad y bioacumulación, por lo que su uso está regulado o prohibido (Omae, 2003). Dado este problema, nuevas alternativas proponen el uso de compuestos derivados de productos naturales marinos, provenientes de plantas e invertebrados que mantienen naturalmente su superficie limpia (Rittschof, 2001). Por esta razón, los compuestos tipo cembrano derivados de octorales, que han mostrado ser activos significativamente en la inhibición de la formación de biopelículas de diferentes bacterias, así como en la inhibición de *quorum sensing*, procesos que están directamente relacionados en la de formación del *fouling* (Tello, Castellanos, Arevalo-Ferro, y Duque, 2009), (Tello y cols., 2011), (Tello, Castellanos, Arévalo-Ferro, y Duque, 2012), se presentan como una alternativa amigable ya que hacen parte de las defensas químicas naturales presentes en organismos marinos y pueden ser usados en pinturas *antifouling*.

Sin embargo, y a pesar de las investigaciones realizadas sobre la actividad de estos compuestos, aún no se ha elucidado una relación entre su estructura o sus propiedades, con la

actividad *antifouling*.

En este sentido, este trabajo plantea un primer acercamiento teórico a la serie de 21 compuestos tipo cembrano, a partir de propiedades moleculares como las cargas parciales atómicas, el potencial electrostático molecular y algunos índices de reactividad, así como el uso de técnicas de agrupamiento, con el fin de establecer relaciones entre su estructura química y su actividad biológica como *antifoulants*. En particular se propone: **i)** usar los descriptores electrostáticos: cargas parciales atómicas empíricas (Gasteiger-Marsili) y cargas parciales atómicas derivadas de la función de onda (Mulliken), en el estudio de la serie de cembranos. **ii)** Encontrar patrones que lleven a establecer una relación estructura actividad (SAR) entre los cembranos estudiados y su actividad biológica como *antifoulants*, que permita la clasificación de estos compuestos. **iii)** Proponer estructuras con posible actividad biológica, por medio de la metodología usada. **iv)** Explicar la reactividad química de los cembranos en términos del potencial electrostático molecular PEM e índices de reactividad.

La tesis se encuentra organizada en 7 capítulos que continúan de la siguiente manera: en el capítulo 2 se proporcionan los conceptos básicos bajo los cuales se desarrolla esta tesis. Entre estos conceptos se citan, el *biofouling* y sus efectos adversos, la importancia de los cembranos como compuestos *antifouling*, la definición de las cargas parciales usadas como descriptores para estudiar estos compuestos, la definición de potencial electrostático molecular, así como su aplicación en estudios de reactividad molecular, una breve exposición sobre índices de reactividad y las características principales de las técnicas usadas para clasificar y agrupar la serie de cembranos.

En el capítulo 3 se encuentra la metodología implementada en este trabajo, desde la preparación de las estructuras por medio de la optimización de su geometría, la evaluación de las cargas parciales, las técnicas de agrupamiento que se siguieron y el análisis de componentes principales. También se incluye la evaluación del potencial electrostático molecular y el cálculo de algunos índices de reactividad.

En el capítulo 4 se exponen los resultados referentes a la caracterización estructural de los cembranos por medio de las cargas parciales, así como, la clasificación obtenida mediante la técnica de agrupamiento jerárquico. De igual manera, se presentan los resultados del análisis de componentes principales usando como variables las cargas parciales de los carbonos correspondientes a la estructura común de estos compuestos. Posteriormente, se establece una relación entre la clasificación hallada y la estereoquímica presente en la estructura común de los cembranos.

En el capítulo 5 se propone una manera de determinar nuevas estructuras de cembranos con potencial *antifoulant*, teniendo en cuenta las características estructurales y la clasificación hallada en el capítulo anterior. El capítulo 6, contiene una descripción de la reactividad química de los cembranos en términos del potencial electrostático molecular y de algunos índices de reactividad.

Finalmente, el capítulo 7 contiene las conclusiones de este trabajo, señalando la importancia de usar un descriptor molecular (cargas parciales) para establecer algunas relaciones de estructura-actividad que permiten proponer nuevas estructuras posiblemente activas biológicamente. Se concluyen los resultados de la reactividad química de los cembranos en relación al potencial electrostático molecular y los índices de reactividad y se sugieren algunas recomendaciones para continuar el trabajo derivado de esta tesis. También se incluye un capítulo de anexos con tablas y gráficas que complementan la información dada en los capítulos anteriores.

2. Estado del arte

La búsqueda de compuestos activos biológicamente ha llevado a explorar múltiples fuentes, principalmente productos naturales y productos de síntesis. Es importante notar que el mayor porcentaje de estos últimos, se derivan de compuestos de origen natural o están relacionados con los mismos (Newman y Cragg, 2012).

Para este estudio consideramos compuestos con actividad *antifouling* los cuales provienen de organismos marinos, particularmente de octocorales recolectados en el Caribe colombiano. El grupo de investigación “Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia”, en la búsqueda de compuestos con actividad *antifouling* ha identificado un conjunto de compuestos del tipo cembrano como potentes *antifoulants* y cabezas de serie. Estos compuestos, se estudian en este trabajo con el fin de determinar patrones estructurales que nos permitan clasificar dicho conjunto de moléculas de acuerdo a su actividad y nos permitan proponer, por medio de relaciones estructura actividad (SAR), nuevos derivados a sintetizar con esta bioactividad.

2.1. Cembranos y actividad antifouling

2.1.1. Biofouling

El *fouling* biológico marino, usualmente denominado *biofouling* marino, puede ser definido como la indeseable acumulación de microorganismos, plantas y animales, en superficies sumergidas en el agua de mar (Yebra y cols., 2004).

Tradicionalmente, se ha considerado que el *fouling* es un proceso que consiste en cuatro etapas generales (ver Figura 2-1): moléculas orgánicas, tales como polisacáridos, proteínas y proteoglicanos y, posiblemente algunos compuestos inorgánicos, se acumulan rápidamente sobre la superficie conformando una capa de acondicionamiento (Callow y Fletcher, 1994), (Abarzua y Jakubowski, 1995). En esta primera etapa, el proceso es gobernado esencialmente por fuerzas físicas tales como, el movimiento Browniano, interacciones electrostáticas y fuerzas de van der Waals.

Posteriormente, bacterias, que se desarrollan rápidamente y diatomeas unicelulares se instalan en esta superficie modificada. Dichas especies son primero adsorbidas reversiblemente, de

nuevo por un proceso principalmente físico, y luego son adheridas, formando junto con protozoos y rotíferos una biopelícula microbial (Abarzua y Jakubowski, 1995), (Clare y cols., 1992). Esta disposición preferencial provee a los microorganismos una alta protección de predadores, toxinas y cambios ambientales, también, ofrece una fácil captura de nutrientes necesarios –gracias a la matriz polimérica en la que se encuentran embebidos– y energía, además de carbono y nutrientes provistos por otros microorganismos que forman la biopelícula (Flemming, Griebe, y Schaule, 1996).

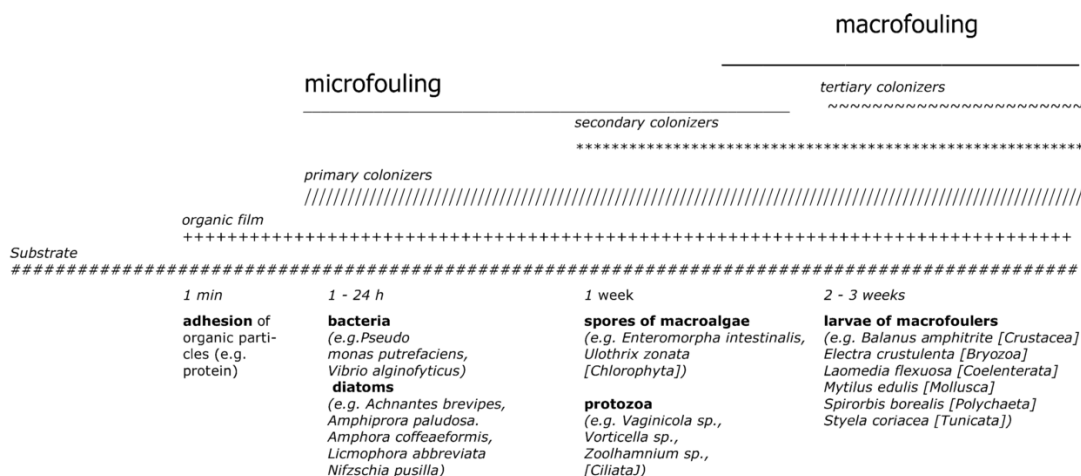


Figura 2-1.: Esquema de las etapas involucradas en el proceso de formación del *biofouling*. Tomado de Yebra y cols. (2004).

La existencia de compuestos adhesivos, sustancias poliméricas extracelulares (EPS), tales como polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y, de la rugosidad de las colonias microbiales irregulares, ayudan a atrapar más partículas y organismos. Entre estos organismos se incluyen esporas de algas, cirripedios, hongos marinos y protozoos, algunos de los cuales pueden ser atraídos por estímulos sensoriales. La transición de una biopelícula microbial a una comunidad más compleja, que típicamente incluye productores primarios multicelulares, herbívoros y descomponedores, es conocida como la tercera etapa del *fouling*. La etapa final, comprende el asentamiento y crecimiento de invertebrados marinos mayores, junto con el crecimiento de macroalgas (algas marinas). Características típicas de los *macrofoulers* son: la rápida metamorfosis, velocidades altas de crecimiento, bajo grado de preferencia por sustrato y alta adaptabilidad a diferentes medios (Yebra y cols., 2004).

Es ampliamente aceptado que la presencia de diferentes moléculas y organismos en la biopelícula, influyen en el asentamiento de subsecuentes organismos. La razón es que muchos de ellos sirven como alimento para organismos jóvenes superiores, alteran el color y el brillo de las superficies, aumentan la alcalinidad, favorecen la deposición de adhesivos, tóxicos biodegradantes e influyen en la fuerza de la adhesión a través de la modificación de la energía libre

de la superficie. Asumir este proceso como estrictamente sucesivo puede inspirar al desarrollo de métodos *antifouling* eficientes basados en el bloqueo de etapas tempranas. Desafortunadamente, esto no ha sido posible debido a que es un proceso con un mecanismo complejo y no es estrictamente secuencial (Clare y cols., 1992).

La influencia local del *biofouling* depende de una gran número de parámetros, algunos de ellos están dados por las condiciones del agua y dependen de la localización geográfica. Entre estos parámetros se conocen: la temperatura, la salinidad, la radiación solar y la profundidad. Consecuentemente, estos parámetros no pueden ser modificados para el control del crecimiento de organismos del *fouling*. Como es bien conocido, las interacciones entre diferentes organismos también modifican el proceso del *fouling*. Bacterias asociadas como hospederos en la biopelícula, pueden causar mortalidad significativa en otros hospederos, producir degradación de los tejidos del huésped, y aumentar la resistencia de sus anfitriones. Bacterias y otras especies mayores pueden competir por nutrientes e inhibir el intercambio de gases, bloquear la luz incidental e incluso secretar metabolitos secundarios los cuales pueden inhibir la fijación (Yebra y cols., 2004).

Aunque el *fouling* es un proceso natural, que hace parte de la necesidad de organismos de asentarse sobre una superficie como parte de su ciclo de vida, es un problema principalmente para las industrias naval y petrolera. En el caso de embarcaciones, algunos de los efectos adversos causados por este asentamiento biológico son (Yebra y cols., 2004):

- Alta resistencia a la fricción, generación de rugosidad en la superficie, incremento del peso de la embarcación, disminución de la velocidad y pérdida de maniobrabilidad. Alto consumo de combustible e incremento de emisión de compuestos tóxicos.
- Incremento en la frecuencia de limpieza, generación de aguas tóxicas en el proceso de limpieza y altos costos.
- Deterioro de recubrimientos, decoloración y alteración de la conductividad eléctrica.
- Introducción de especies en ambientes donde no están naturalmente presentes (especies invasivas o especies no nativas).

Para aminorar este problema se han utilizado recubrimientos con acción biocida derivados del estaño y el cobre, que aunque disminuyen el *fouling* generan problemas ambientales debido a su alta toxicidad y bioacumulación, por lo que su uso está regulado o prohibido (Omae, 2003). Alternativamente se han usado pinturas *antifouling* a base de biocidas, incluidos los de uso más frecuente (biocidas de refuerzo) en todo el mundo tales como Irgarol 1051, Sea-Nine y piritiona de zinc, para los cuales se ha encontrado que se acumulan en las aguas costeras y se han convertido en una amenaza para el medio marino (Fusetani, 2011).

En el marco anterior y ante la necesidad de encontrar nuevos compuestos *antifoulant* amigables con el medio ambiente, el estudio de agentes *antifouling* se ha enfocado en los productos naturales marinos, que proveen compuestos no tóxicos que pueden ser incorporados en pinturas *antifouling* más seguras (Fusetani, 2011). Las propiedades *antifouling* de un compuesto son difíciles de evaluar *in vitro*; pero pueden ser inferidas mediante ensayos de inhibición de *quorum sensing*¹ e inhibición de crecimiento bacterial. Estos fenómenos modulan la colonización microbiana de la superficie y la maduración de biopelículas en las primeras etapas del proceso de formación del *biofouling*.

2.1.2. Cembranos

Entre la diversidad de estructuras obtenidas a partir de organismos marinos (Fusetani, 2011), los cembranos aislados de octocorales del Caribe colombiano surgen como una alternativa para combatir el *fouling*. Estos compuestos muestran una significativa inhibición de la actividad *quorum sensing* de sistemas involucrados en la maduración de biopelículas, así como, en el crecimiento de las bacterias marinas asociadas al *fouling*, las cuales están involucradas en las primeras etapas del proceso de formación del *fouling* (Tello y cols., 2009), (Tello y cols., 2011), (Tello y cols., 2012). Los cembranos son compuestos tipo diterpenoides, que poseen una estructura común conformada por 20 átomos de carbono con diferentes grupos funcionales unidos a él. Ver Figura 2-2.

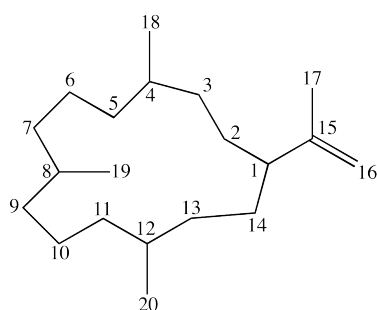


Figura 2-2.: Estructura química común de los compuestos tipo cembrano.

Los compuestos estudiados en este trabajo, Figura 2-3, provienen de extractos de dos octocorales del Caribe colombiano o de derivados químicos de estos. Los cembranos **1 - 5** y **19 - 21**, fueron obtenidos a partir del extracto orgánico del octocoral *Eunicea knighti* (Figura 2-4) (Tello y cols., 2012); mientras que los cembranos **6 - 10** son compuestos semisintéticos obtenidos mediante transformaciones químicas de los compuestos aislados naturalmente. Los

¹Implica el control celular de poblaciones bacterianas a través de la comunicación utilizando moléculas como señalización y una compleja red de circuitos genéticos con regulación por retroalimentación. Por medio de la detección de estas señales químicas, las bacterias pueden responder como grupo y detectar el “*quorum*” de una población con el fin de regular diferentes fenotipos. (Tello y cols., 2012).

compuestos **11** - **18** son cuatro parejas de epímeros aislados del octocoral *Pseudoplexaura flagellosa* (Figura 2-4) (Tello y cols., 2011).

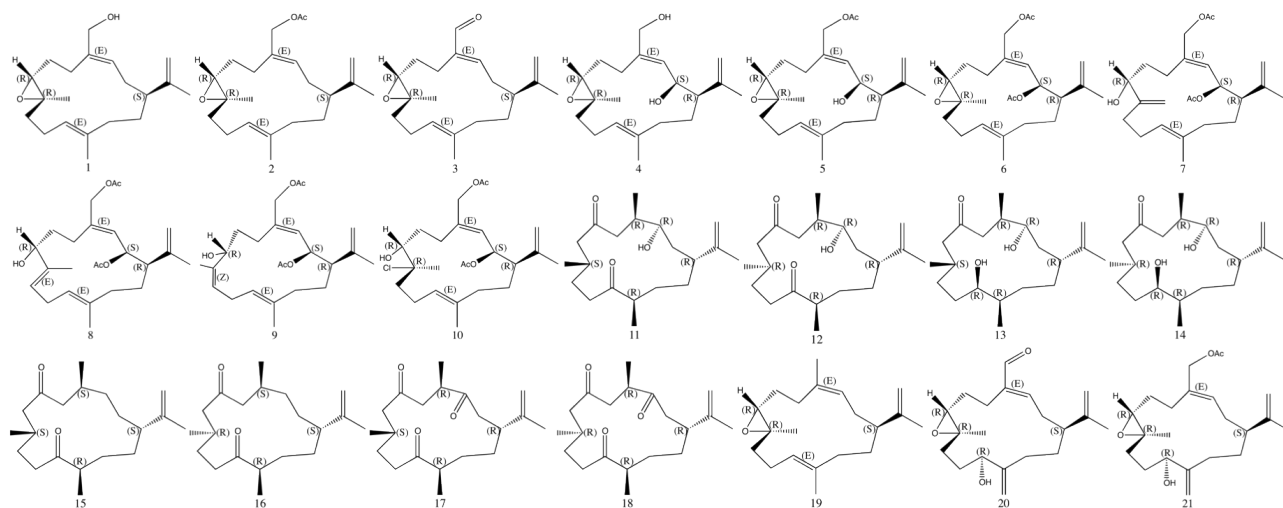


Figura 2-3.: Fórmulas estructurales de la serie de cembranos objeto de estudio.

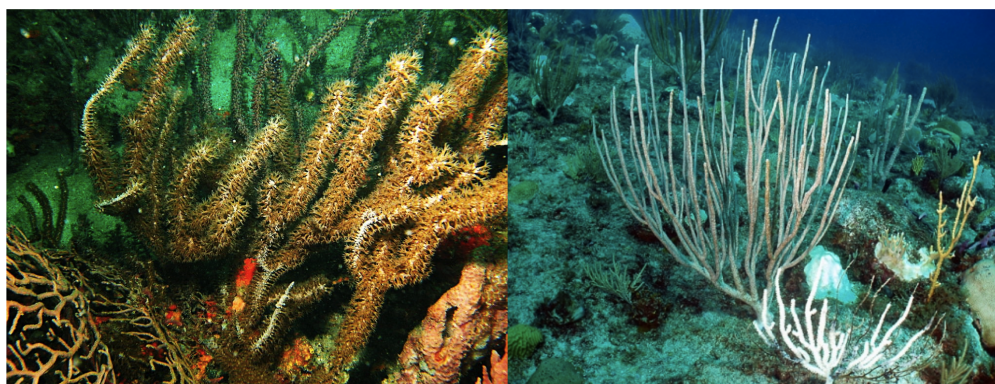


Figura 2-4.: Octocorales: Izquierda *Eunices knighti*, derecha *Pseudoplexaura flagellosa*.

2.2. Cargas parciales atómicas

Un concepto muy antiguo en la química es asociar la polaridad molecular con la acumulación de carga o la disminución de la misma sobre los átomos individuales. En la racionalización de enlace de hidrógeno en el agua, por ejemplo, se habla de que el oxígeno es “negativo” y los átomos de hidrógeno “positivos”. Parte de la fuerza motriz de esta presunción, es que permite ignorar convenientemente el carácter deslocalizado (cuántico) de los electrones y se ocupa sólo de estos átomos que reflejan la distribución electrónica por el grado en que llevan carga positiva o negativa. Absolutamente fundamental para la eficacia de la mayoría de las metodologías de campos de fuerza, que se emplean en mecánica molecular, es que se

calculan las interacciones eléctricas como las interacciones carga-carga de átomos centrados, por lo que el desarrollo de métodos para la asignación de cargas parciales a los átomos en las moléculas han sido testigos de una considerable investigación (Bowen y Allinger, 2007).

2.2.1. Cargas parciales Gasteiger-Marsili

Este tipo de carga no está determinada desde la mecánica cuántica, sino a través de un enfoque intuitivo. Al considerar, una molécula diatómica neutra con un momento dipolar conocido, entonces, uno de los átomos debe tener carga $q+$ y el otro, para preservar el balance de carga, debe tener carga $q-$. Una opción para q debe ser el valor que, en conjunto con la longitud de enlace experimental r_e , hace que el clásico momento dipolar qr_e , sea igual al experimental. Este tipo de carga ha sido muy popular históricamente debido a la enorme velocidad con la que pueden, en principio, ser calculadas. El acercamiento a este tipo de cargas es por medio del método de equiparación parcial de la electronegatividad orbital (PEOE) codificado por Gasteiger y Marsilli (Gasteiger y Marsili, 1980). Tal modelo supone que la electronegatividad χ de un tipo de átomo k , tiende a ser dependiente del número atómico y también del tipo de enlace, y es una función cuadrática de la carga parcial atómica (Cramer, 2004):

$$\chi_k = a_k + b_k(Z_k - Q_k) + c_k(Z_k - Q_k)^2 \quad (2-1)$$

donde Z es el número atómico, Q es el número de electrones en el átomo (por lo tanto la carga parcial $q = Z - Q$), y a , b y c son parámetros a ser optimizados. El PEOE procede entonces como un proceso convergente e iterativo. En el paso 0, a todos los átomos se asignan cargas basados en el tipo átomo (por lo general cero, pero posiblemente no si el átomo es parte de un grupo funcional intrínsecamente cargado). Luego, para cada paso subsiguiente n , la carga electrónica se transfiere de átomos de baja electronegatividad k a átomos de mayor electronegatividad k' dentro de cada par enlazado de acuerdo con (Cramer, 2004):

$$\Delta Q_{k \rightarrow k'}^{(n)} = \frac{\chi_{k'}^{(n-1)} - \chi_k^{(n-1)}}{a_k + b_k + c_k} f_{kk'}^n \quad (2-2)$$

donde el número de iteración que aparecen en paréntesis como superíndices, se utilizan simplemente para la indexación, el denominador es la electronegatividad del catión del átomo menos electronegativo (Ecuación 2-1) y f es un factor de amortiguamiento elevado a la n -ésima potencia. Nuevas poblaciones electrónicas se calculan entonces, según (Cramer, 2004):

$$Q_k^{(n)} = Q_k^{(n-1)} - \sum_{\substack{k' \text{ enlazado a } k \\ \chi_{k'} > \chi_k}} \Delta Q_{k \rightarrow k'}^{(n)} + \sum_{\substack{k' \text{ enlazado a } k \\ \chi_k > \chi_{k'}}} \Delta Q_{k' \rightarrow k}^{(n)} \quad (2-3)$$

2.2.2. Cargas parciales Mulliken

Este modelo de cargas implican una partición directa de la función de onda molecular en contribuciones atómicas siguiendo algún esquema arbitrario basado en los orbitales que se emplean para construir la función de onda molecular. El primero de esos esquemas fue propuesto por Mulliken (Mulliken, 1955), y este método de análisis de la población ahora lleva su nombre. Conceptualmente es muy simple, los electrones se dividen entre los átomos de acuerdo con el grado en que diferentes funciones de base atómicas OA contribuyen a la función global de onda. A partir de la expresión utilizada para el número total de electrones y la expresión de la función de onda en su conjunto base OA, se tiene:

$$\begin{aligned} N &= \sum_j^{\text{electrones}} \int \psi_j(\mathbf{r}_j) \psi_j(\mathbf{r}_j) d\mathbf{r} \\ &= \sum_j^{\text{electrones}} \sum_{r,s} \int c_{j,r} \varphi_r(\mathbf{r}_j) c_{j,s} \varphi_s(\mathbf{r}_j) d\mathbf{r} \\ &= \sum_j^{\text{electrones}} \left(\sum_r c_{jr}^2 + \sum_{r \neq s} c_{jr} c_{js} S_{rs} \right) \end{aligned} \quad (2-4)$$

donde el subíndice r indica la base OA, j hace referencia al orbital molecular y S es la matriz de solapamiento. Desde la última línea de la ecuación 2-4, se observa que se puede dividir el número total de electrones en dos sumas, una incluyendo solo los cuadrados de las funciones de base individuales OA y la otra, incluyendo los productos de dos funciones OA distintas. Claramente, los electrones asociados con una sola función de base (es decir, los términos de la primera suma entre paréntesis en el lado derecho de la última línea de la ecuación 2-4) deben ser considerados como pertenecientes exclusivamente al átomo en el que la función de base esta centrada. En cuanto al segundo término, este representa los electrones “compartidos” entre las funciones de base. Mulliken propuso que se podría así distribuir de manera uniforme entre los dos átomos en el que las funciones de base r y s se centran. Si se sigue este tratamiento y además se dividen las funciones de base a lo largo de los átomos k con el fin de calcular la población atómica N_k , la ecuación 2-4 se convierte en (Cramer, 2004):

$$N_k = \sum_j^{electrones} \left(\sum_{r \in k} c_{jr}^2 + \sum_{r,s \in k, r \neq s} c_{jr} c_{js} S_{rs} + \sum_{r \in k, s \notin k} c_{jr} c_{js} S_{rs} \right) \quad (2-5)$$

Nótese que la ortonormalidad de funciones de base de diferente momento angular que están centradas en el mismo átomo k causa que muchos términos en la segunda suma de la ecuación 2-5 sean cero (Cramer, 2004). La carga atómica parcial Mulliken se define entonces como:

$$q_k = Z_k - N_k \quad (2-6)$$

donde Z es la carga nuclear y N_k es calculada de acuerdo a 2-5.

2.2.3. Aplicaciones

A continuación se mencionan algunas de las aplicaciones de las cargas parciales atómicas:

- Estudios de reactividad, en el análisis de correlación del efecto de sustituyentes electrónicos en fullerenos (Saleh, Essa, Al-Shawi, y Jalbout, 2009).
- El análisis comparativo de campos moleculares (CoMFA) y en análisis de los índices de similaridad (CoMSIA), para el estudio de la actividad biológica de compuestos derivados de adamantil (Gadhe y cols., 2011).
- En modelos predictivos de 3D-QSAR (Mittal, Harris, Mckinnon, y Sorich, 2009).
- Como índice para la reactividad de moléculas con respecto al ataque nucleofílico del ión hidróxido de N-fenilacetamidas (Galabov, Cheshmedzhieva, Ilieva, y Hadjieva, 2004).
- Como índice para describir la reactividad de fenilacetatos respecto al ataque nucleofílico por amoníaco y otras aminas (Galabov, Ilieva, Hadjieva, Atanasov, y Schaefer, 2008).
- La distribución de las cargas parciales ha servido para enriquecer un descriptor enantioselectivo 3D-QSAR en el estudio de la estereoquímica (Sliwoski, Lowe, Butkiewicz, y Meiler, 2012).
- En investigaciones teóricas sobre la maleimida y derivados indolil en una aproximación para el diseño de fármacos inhibidores de la proteína kinasa PKC- β II (Grewal y Sobhia, 2012).
- El estudio de compuestos con potencial antibacterial (Ishii y cols., 2011).

2.3. Potencial electrostático molecular

Es bien conocido que el potencial electrostático molecular (PEM) está relacionado con las propiedades físicas y químicas de las moléculas, siendo una propiedad que se ha establecido como guía en la interpretación y predicción del comportamiento químico, en particular, es una herramienta muy adecuada para estudios que implican la identificación de las características claves necesarias para el “reconocimiento” de una molécula por otra (Truhlar, Politzer, y Society, 1981), (Murray y Politzer, 2011). El PEM es una propiedad física real la cual está rigurosamente definida y se puede determinar tanto experimentalmente por técnicas de difracción como computacionalmente (Stewart, 1979).

El PEM, es una magnitud que recoge información acerca de los electrones y núcleos de la molécula y se define como la energía requerida para situar una carga de prueba puntual positiva en un punto r , la cual se calcula mediante la expresión:

$$V(r) = \sum \frac{Z_A}{|R_A - r|} - \int \frac{\rho(r')dr'}{|r' - r|} \quad (2-7)$$

donde Z_A representa la carga del núcleo A, $\rho(r')$ es la función de densidad electrónica, y se expresa en unidades atómicas (u.a).

Este potencial $V(r)$ ha sido usado ampliamente para interpretar y predecir el comportamiento reactivo de muchas moléculas en reacciones electrofílicas o nucleofílicas, en procesos de reconocimiento biológico, diseño de fármacos, interacciones de tipo puente de hidrógeno, interacciones no covalentes y fenómenos de solvatación (Murray y Politzer, 2011).

En estudios cuantitativos de relaciones estructura actividad (QSAR) se ha encontrado que el área superficial y el volumen superficial tienen un papel importante en la actividad de moléculas biológicamente activas. Entre varias fuerzas, como las interacciones estéricas, hidrofóbicas y electrostáticas, las fuerzas electrostáticas predominan donde las interacciones iónicas y polares entre las moléculas son dominantes. Las representaciones gráficas del PEM se han empleado para examinar una propiedad dada dentro de una serie de compuestos químicos y proponer compuestos con características mejoradas para la determinación de un cierto aspecto de las interacciones moleculares involucradas (Cramer, 2004).

El PEM es particularmente útil cuando se visualiza en superficies o regiones del espacio próximas a la molécula, ya que proporciona información acerca de la polaridad local. Típicamente, después de seleccionar algún tipo de región para ser visualizada, se elige una convención de codificación por color para representar el PEM. Por ejemplo, el potencial más negativo se

asigna el color rojo, el potencial más positivo se asigna el color azul, y el espectro de color se asigna a todos los demás valores por interpolación lineal. Si esto se hace en la superficie molecular de van der Waals, se puede discernir de inmediato regiones de potencial negativo y positivo local, que pueden ser de carácter informativo para los propósitos de predicción en la reactividad química (Cramer, 2004).

2.4. Índices de reactividad

La reactividad química inherente de una gran variedad de moléculas se ha descrito en los últimos años a través de diferentes conceptos y principios. Por ejemplo, el concepto de electronegatividad se ha utilizado para establecer cualitativamente la distribución de carga electrónica entre los diferentes átomos de una molécula, o la dirección del flujo de carga cuando dos especies interactúan. Los conceptos de dureza y suavidad, junto con los principios ácido-base-duro-blando, se han utilizado para explicar cualitativamente el vasto mundo de la química ácido-base de Lewis. Sin lugar a dudas, desde un punto de vista teórico, desde el enfoque de la función de onda a la descripción de los procesos químicos, los orbitales moleculares se han utilizado ampliamente de manera básicamente cualitativa, pero al mismo tiempo conceptualmente simple y general para la interpretación de la reactividad química intrínseca. En particular, la teoría de orbitales frontera se ha utilizado para entender los aspectos fundamentales de una gran variedad de reacciones orgánicas e inorgánicas.

Los Descriptores de Reactividad Global (GRDs) describen la reactividad de un átomo, ion o molécula en su conjunto. De hecho, muchos descriptores de reactividad globales y locales inferidos a partir de conceptos emanados de la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) son conocidos (Hackett, 2010). Uno de los GRDs importantes es la dureza, el cual fue introducido por primera vez por Pearson en su teoría ácido-base-duro-blando (HSAB) (Pearson y Pearson, 1973). En general, un sistema químico es duro, si es menos polarizable y magnetizable. La dureza η se define como (Parr y Pearson, 1983):

$$\eta = I - A = E_{HOMO} - E_{LUMO} \quad (2-8)$$

donde I y A corresponden al potencial de ionización y a la afinidad electrónica, respectivamente. La suavidad S , es el inverso de la dureza η y es definido por:

$$S = \frac{1}{\eta} = \frac{1}{E_{HOMO} - E_{LUMO}} \quad (2-9)$$

Otro GRD importante es la electrofilicidad, que ha sido definido por Parr et al. como la energía de estabilización de una especie química cuando adquiere una fracción adicional de carga electrónica (Parr, Szentpály, y Liu, 1999). El índice de electrofilicidad global ω se define

como:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (2-10)$$

donde μ es el potencial químico, definido como:

$$\mu = \frac{I + A}{2} = \frac{E_{HOMO} + E_{LUMO}}{2} \quad (2-11)$$

La electronegatividad se puede obtener del potencial químico, a partir de la relación:

$$\chi = -\mu \quad (2-12)$$

2.5. Clustering o agrupamiento

El agrupamiento, es una técnica de análisis de datos que al ser usada en un conjunto de elementos heterogéneos, identifica grupos homogéneos definidos por un determinado modelo o medida de similitud. Los *clusters* son considerados como grupos de datos que contienen objetos que son similares entre sí y difieren de los de otros grupos. Las técnicas de clasificación en un sentido amplio buscan detectar agrupaciones de individuos, teniendo en cuenta sus características y considerando una determinada similitud entre ellos. Dentro de las muchas técnicas de agrupamiento en este trabajo se considera el agrupamiento o *clustering* jerárquico.

El proceso general de las técnicas de agrupamiento involucra los siguientes pasos:

- Generar descriptores apropiados para cada compuesto en un conjunto de datos.
- Seleccionar una medida apropiada de similitud.
- Usar un método apropiado de agrupamiento para el conjunto de datos.
- Analizar los resultados.

La métrica más usada para cuantificar la similitud o proximidad entre los datos en dos o tres dimensiones para variables continuas es la distancia euclidiana, la cual se define mediante la ecuación 2-13; cuanto menor es el valor de la distancia, existe mayor proximidad o similitud entre los datos que se comparan entre sí.

$$d_2(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j) = \left(\sum_{k=1}^d (x_{i,k} - x_{j,k})^2 \right)^{1/2} \quad (2-13)$$

Los algoritmos de agrupamiento jerárquico, crean una descomposición jerárquica de un conjunto de datos formando un árbol que divide recursivamente el conjunto de datos en conjuntos más pequeños. Dependiendo de la forma en que se construye la jerarquía de los grupos esta técnica se divide principalmente en dos: agrupamiento jerárquico aglomerativo y agrupamiento jerárquico divisivo (Jain, Murty, y Flynn, 1999).

En el enfoque del agrupamiento jerárquico aglomerativo cada punto de datos constituye un grupo distinto al inicio, continuamente se fusionan los dos agrupamientos más similares hasta que todos los puntos pertenecen al mismo grupo. Como se muestra en la Figura 2-5 el agrupamiento aglomerativo primero fusiona los pares más similares (en este ejemplo A y B) y sigue la fusión hasta que los cinco puntos (A, B, C, D, E) se encuentran en el mismo grupo. En el caso del agrupamiento divisivo se comienza con todos los datos en el mismo grupo y a medida que se va iterando se dividen los datos en *clusters* según determinada similitud hasta que cada punto de datos se encuentra en un *cluster* o grupo individual (Lee y Yang, 2009).

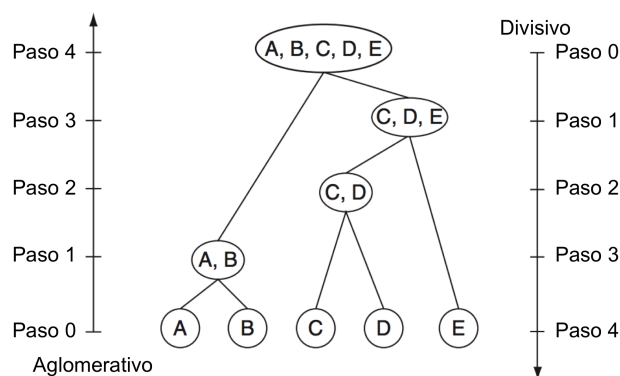


Figura 2-5.: Principios del agrupamiento jerárquico aglomerativo y divisivo con $\{X = A, B, C, D, E\}$. Adaptado de (Lee y Yang, 2009).

Entre los métodos más comunes para unir o enlazar los *clusters* formados en el agrupamiento jerárquico se tienen: simple, completo, promedio, *Ward*, medias y *Mcquitty*.² El método *Ward* es un procedimiento en el que en cada etapa se unen los dos *clusters* para los cuales se tenga el menor incremento en el valor total de la suma de los cuadrados de las diferencias, dentro de cada *cluster*, de cada individuo al centroide del *cluster*; mientras que el método de enlace completo, considera que la distancia entre *clusters* viene dada por la máxima distancia entre sus componentes lo cual lo hace muy sensible para datos extremos. Para un análisis más detallado de los métodos de enlace en el agrupamiento jerárquico consultar (Murtagh y Contreras, 2012).

²Dado que los resultados obtenidos entre los distintos tipos de enlaces para realizar los agrupamientos son muy similares, en el caso en el que se usan los valores de las cargas parciales como las variables que describen los compuestos, se mostrarán aquellos que están basados en los métodos de enlace *Ward* y completo.

2.6. Análisis de componentes principales

El Análisis de Componentes Principales (ACP), es una técnica estadística de síntesis de la información o reducción de la dimensión (número de variables). Esta técnica fue inicialmente desarrollada por Pearson a finales del siglo XIX y posteriormente fue estudiada por Hotelling en los años 30 del siglo XX (Abdi y Williams, 2010).

Para estudiar las relaciones que se presentan entre p variables correlacionadas (que miden información común), se puede transformar el conjunto original de variables en otro conjunto de nuevas variables no correlacionadas entre sí (que no tenga repetición o redundancia en la información) llamado, conjunto de componentes principales. Las nuevas variables son combinaciones lineales de las anteriores y se van construyendo según el orden de importancia en cuanto a la variabilidad total que recogen de la muestra. De modo ideal, se buscan $m < p$ variables que sean combinaciones lineales de las p originales y que no estén correlacionadas, recogiendo la mayor parte de la información o variabilidad de los datos. El análisis de componentes principales, es una técnica que no requiere la suposición de normalidad multivariante de los datos, aunque si esto último se cumple se puede dar una interpretación más profunda de dichos componentes (Abdi y Williams, 2010).

3. Metodología

3.1. Optimización de la geometría

Los cálculos de estructura electrónica y densidad de carga, se llevaron a cabo con la geometría optimizada usando el nivel de teoría de los funcionales de la densidad DFT con el funcional híbrido de intercambio de Becke y el funcional de correlación de Lee, Yang y Parr (B3LYP) y la base 6-31G (d,p) en el programa Gaussian 03 (Frisch y cols., 2004).

3.2. Cargas parciales

Las cargas parciales empíricas Gasteiger-Marsili y las cargas parciales mecánico cuánticas Mulliken se usaron como variables para describir el sistema. Estas cargas fueron evaluadas sobre los átomos de carbono C-1 a C-20, que conforman la estructura en común de los cembranos. La numeración de estos átomos de carbono se muestra en la Figura 4-2.

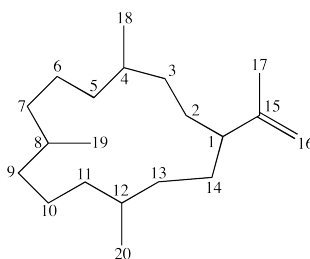


Figura 3-1.: Numeración de los átomos de carbono del anillo central de los cembranos.

3.3. Clasificación de cembranos

La clasificación de los compuestos estudiados se llevó a cabo mediante la técnica de agrupamiento jerárquico aglomerativo, en el cual se usó como matriz de entrada de datos, los valores de las cargas parciales atómicas correspondientes a los 20 átomos de carbono del anillo para cada uno de los 21 compuestos de la serie de cembranos estudiados. Los agrupamientos se realizaron usando como parámetros la distancia euclidiana y los métodos de unión *ward* y completo. Los resultados de los agrupamientos se obtienen en representaciones gráficas denominadas dendrogramas. Los dos modelos de cargas parciales fueron estudiados por separado

y la determinación de los diferentes agrupamientos se realizó usando el programa estadístico R (Team, 2012).

3.4. Análisis de componentes principales

El análisis estadístico para disminuir el número de variables (cargas parciales sobre los átomos de carbono del anillo central), se realizó por medio del análisis de componentes principales (ACP). Estos resultados se obtuvieron usando el programa estadístico R (Team, 2012).

3.5. Potencial electrostático molecular

El potencial electrostático molecular PEM, se evaluó en una rejilla con igual densidad de puntos para cada molécula, usando la función de densidad electrónica calculada con el método B3LYP 6-31G(d,p). Este potencial se calculó empleando el paquete Cubegen de Gaussian03 (Frisch y cols., 2004).

La representación de las isosuperficies del PEM como un árbol se realizó usando el programa TARIS (Marin, Aguirre, y Daza, 2008), teniendo en cuenta tres parámetros durante el barrido del potencial: el corte inicial, el corte final y el tamaño de paso; para el PEM positivo se hizo un barrido desde 1.0 u.a hasta 0.05 u.a y para el PEM negativo un barrido desde -0,1 u.a hasta -0,05 u.a, el tamaño de paso usado en los dos casos es de 0,005 u.a. Los intervalos elegidos para el PEM positivo como negativo, responden a la aparición de las primeras isosuperficies de potencial que representan los compuestos estudiados.

3.6. Índices de reactividad

Los índices de reactividad se calcularon usando los orbitales moleculares de frontera y el teorema de Koopmans que permiten expresar los parámetros de reactividad globales, electronegatividad χ , dureza química η , potencial químico μ , entre otros, en términos de las energías de los orbitales moleculares HOMO (High Occupied Molecular Orbital) y LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Las expresiones usadas para calcular estos índices fueron:

- Potencial de ionización

$$I = -E_H \quad (3-1)$$

- Afinidad electrónica

$$A = -E_L \quad (3-2)$$

- Electronegatividad

$$\chi = \frac{1}{2}(I + A) = -\frac{1}{2}(E_L + E_H) \quad (3-3)$$

- Dureza química

$$\eta = \frac{1}{2}(I - A) = \frac{1}{2}(E_L - E_H) \quad (3-4)$$

- Potencial químico

$$\mu = -\chi \quad (3-5)$$

- Suavidad química

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (3-6)$$

- Índice de electrofilidad

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (3-7)$$

Donde E_H es la energía del orbital molecular HOMO y E_L es la energía del orbital molecular LUMO.

4. Caracterización estructural

4.1. Cargas parciales

El conjunto de 21 cembranos, Figura 4-1, fue caracterizado por medio de n -tuplas compuestas por los valores de las cargas parciales. En este trabajo se consideran dos tipos de cargas parciales, según se dijo anteriormente: Gasteiger-Marsili y Mulliken. Estas cargas fueron evaluadas, sobre cada uno de los 20 átomos de carbono que conforman la estructura común a estas moléculas Figura 4-2. Los valores explícitos de las cargas parciales Gasteiger-Marsili y Mulliken se presentan en el anexo A.1.

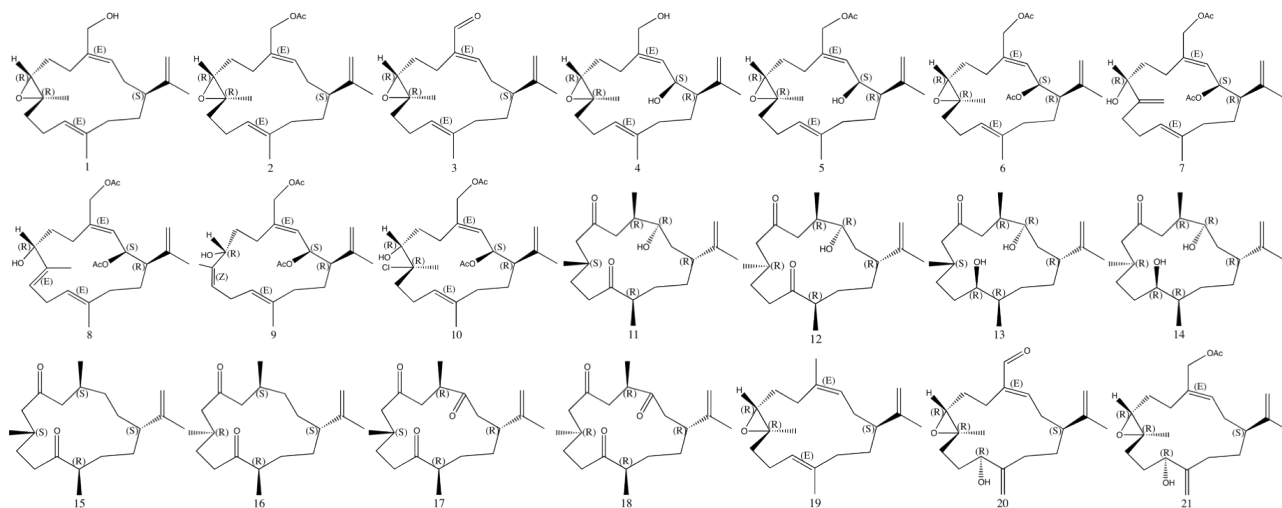


Figura 4-1.: Fórmulas estructurales de la serie de cembranos objeto de estudio.

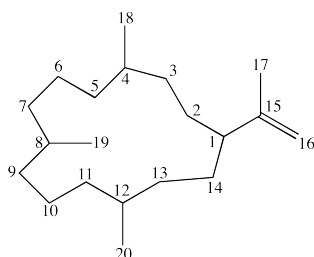


Figura 4-2.: Numeración de los átomos de carbono en la estructura común de los cembranos.

Un diagrama de barras permite observar el comportamiento de las cargas parciales sobre la estructura común de los cembranos (Figuras 4-3 y 4-4). En estos diagramas se puede ver que tanto las cargas parciales Gasteiger-Marsili como las cargas parciales de Mulliken varían significativamente en valor y signo para los átomos de carbono estudiados, sugiriendo que las cargas parciales pueden ser usadas como un buen descriptor local, y su conjunto como variables para caracterizar cada una de las moléculas. Así a cada molécula M_I , le corresponderá un vector de 20 variables dadas por las cargas parciales de los átomos comunes, $M_I = (q_1, q_2, \dots, q_{20})$, donde q_i es la carga parcial de Gasteiger-Marsili o de Mulliken del i -ésimo átomo y M_I es la i -ésima molécula del conjunto.

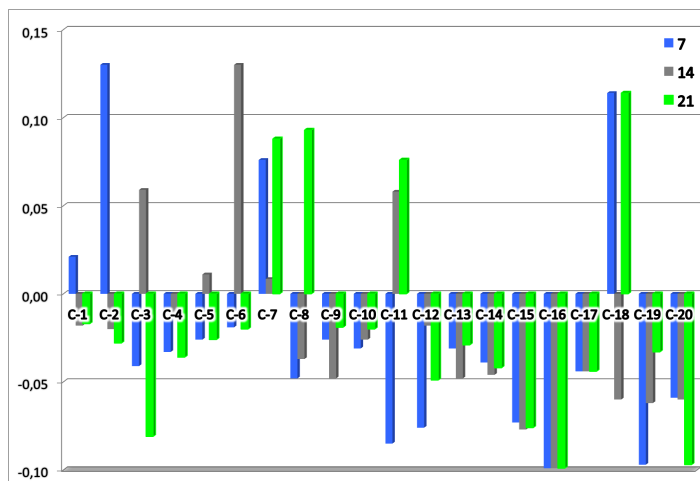


Figura 4-3.: Variación de los valores de las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili (en unidades atómicas) para los átomos de carbono de la estructura en común de los cembranos, para los compuestos: 7, 14 y 21.

Para realizar una búsqueda de patrones en la estructura de estos compuestos se realizó una clasificación de los cembranos representados por los vectores de las cargas parciales por medio del agrupamiento jerárquico, el cual permite apreciar de manera exploratoria como se agrupan los compuestos que poseen características similares entre sí, esto con el fin de determinar propiedades estructurales comunes de cada grupo.

Como se mencionó en la metodología, en este trabajo se usó como medida para determinar la similitud entre estos compuestos, la distancia euclideana y los métodos de unión *ward* y completo. En las Figuras 4-5 y 4-6, se muestran los dendrogramas obtenidos con los dos tipos de cargas parciales sobre la familia de los cembranos, usando los métodos de unión *ward* y completo.

Una de las características que más se destaca en todos los dendrogramas es la partición del conjunto de cembranos en dos ramas o *clusters* principales: la rama **A** contiene las moléculas

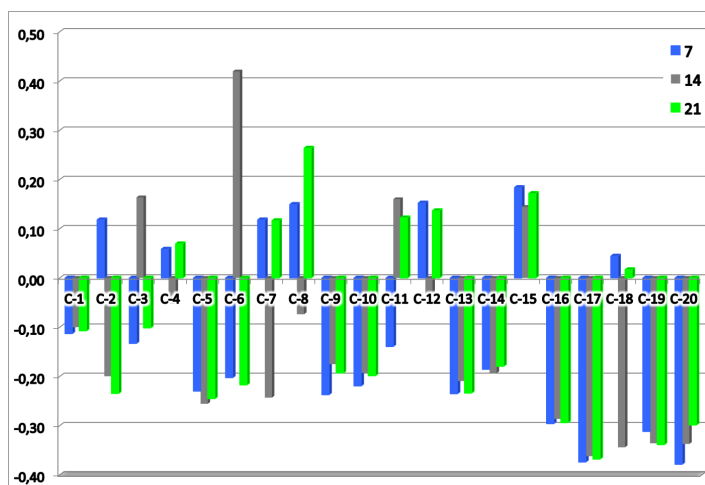


Figura 4-4.: Variación de los valores de las cargas parciales atómicas Mulliken (en unidades atómicas) para los átomos de carbono de la estructura en común de los cembranos, para los compuestos: 7, 14 y 21.

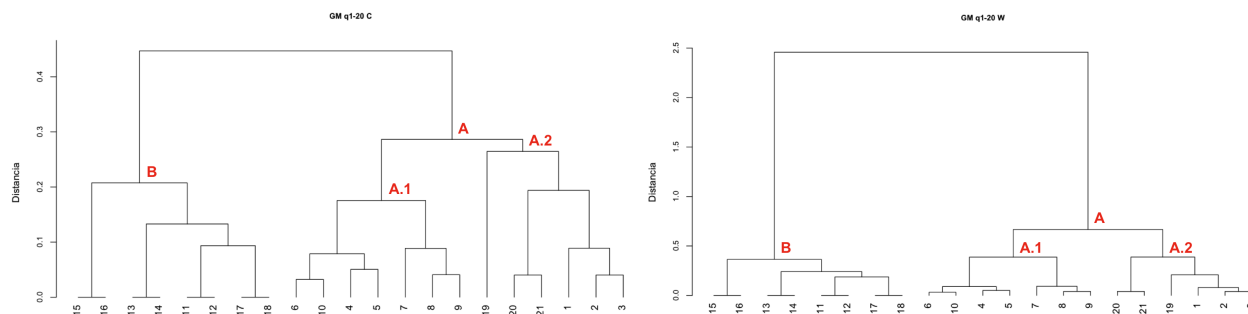


Figura 4-5.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha) para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili.

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 19, 20 y 21, y la rama **B** agrupa a las moléculas 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18. Esta partición se produce de manera independiente a que se emplee cualquiera de los dos tipos de cargas parciales o de los dos métodos de unión.

En los dendrogramas anteriores la rama **A** contiene dos grupos principales, el grupo **A.1** conformado por los compuestos 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, y el grupo **A.2** que reúne los compuestos 1, 2, 3, 19, 20 y 21. Esta clasificación presenta una única excepción en el caso de las cargas parciales de Mulliken, cuando se usa el método de unión completo para el compuesto 19, el cual se encuentra anidado en el grupo **A.1**.

Al realizar un análisis comparativo entre las estructuras de los compuestos pertenecientes a cada agrupamiento, se observa que la partición mencionada se relaciona con la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales en los carbonos que hacen parte de la estructura en común de los cembranos. La partición inicial en las ramas **A** y **B** se puede relacionar con la

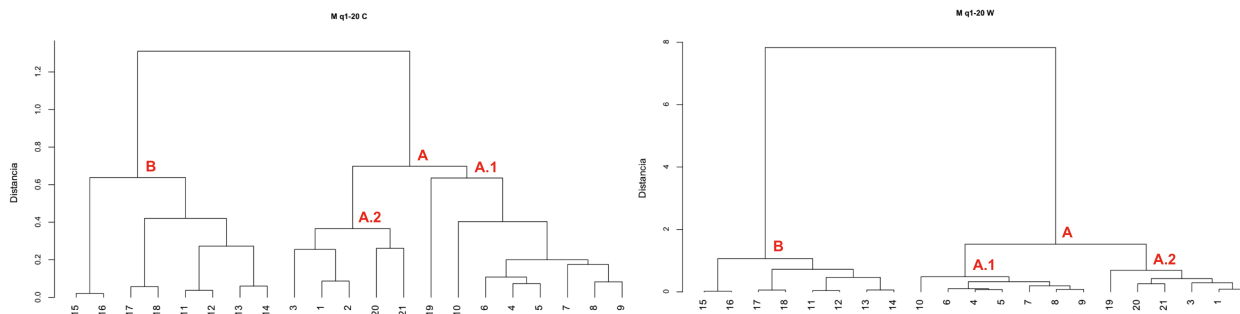


Figura 4-6.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha) para las cargas parciales atómicas Mulliken.

presencia de un doble enlace en el carbono C-3, el cual solamente exhiben los compuestos que hacen parte de la rama **A**, también está relacionada con la presencia de un grupo carbonilo en el carbono C-6 y la ausencia de grupos funcionales en C-7 que se dan únicamente en los compuestos de la rama **B**. Ver Figura 4-7.

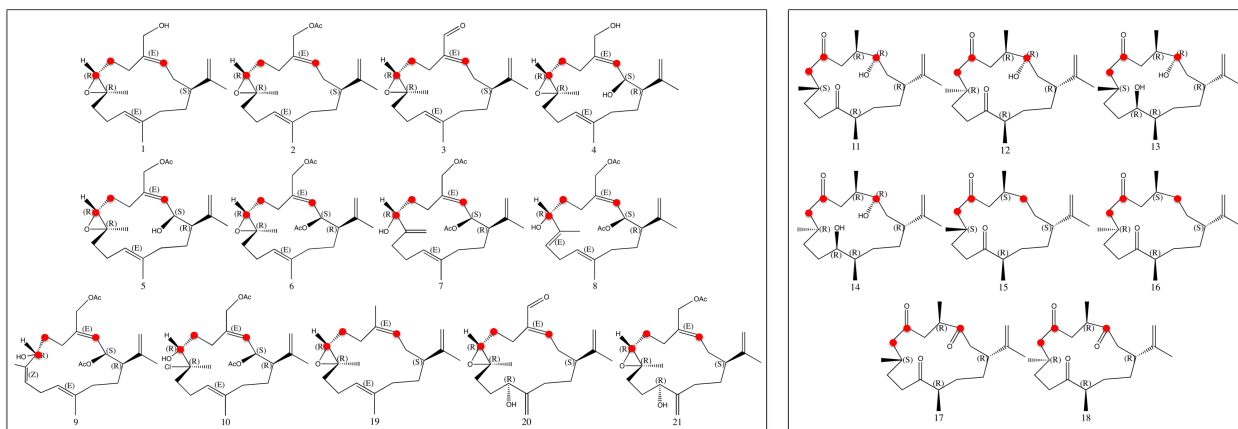


Figura 4-7.: Compuestos que conforman las ramas **A** (izquierda) y **B** (derecha). En rojo se señalan los carbonos C-3, C-6 y C-7.

Cabe notar, que los cembranos que conforman la rama **A** pueden clasificarse de acuerdo a si estos presentan o no un grupo funcional en el carbono C-2, de esta manera, los compuestos que presentan un grupo funcional en C-2, ya sea un alcohol o un acetoxi, se encuentran en la rama **A.1** y aquellos sin grupo funcional en C-2 se aglomeran en la rama **A.2**. Ver Figura 4-8.

Al observar más detalladamente los grupos que conforman las ramas **A.1** y **A.2**, estos muestran una partición que da lugar a 4 subgrupos que se denominaran: **A.1.1**, **A.1.2**, **A.2.1** y **A.2.2**. En el caso de los compuestos que conforman el grupo **A.1** se observa que la partición de este se relaciona con el doble enlace que se presenta en el carbono C-8. De este modo, se tiene la rama **A.1.1** formada por los cembranos **7**, **8** y **9**, y la rama **A.1.2** con los compuestos **4**, **5**, **6** y **10**. Ver Figura 4-8, izquierda.

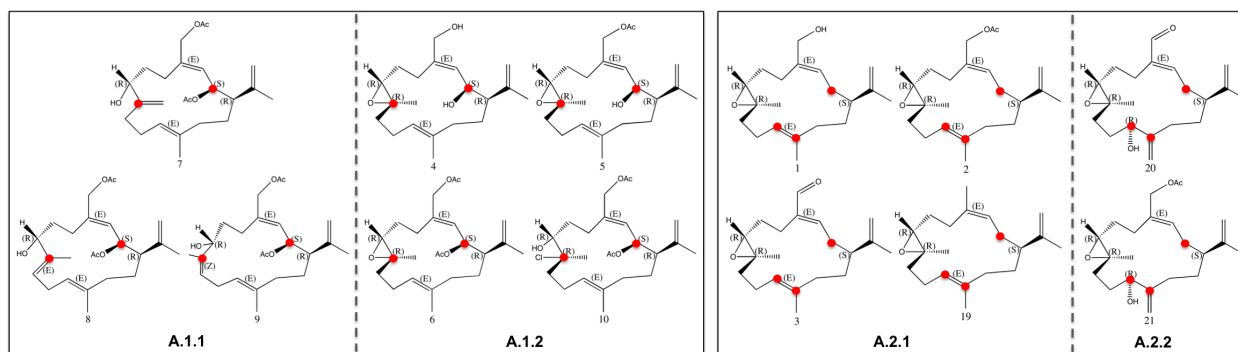


Figura 4-8.: Compuestos que conforman las ramas **A.1** (izquierda) y **A.2** (derecha) y sus respectivos subgrupos. En rojo se señalan los carbonos C-2, C-8, C-11 y C-12.

A su vez, el conjunto de moléculas que conforman la rama **A.2** puede subdividirse en dos grupos, ahora en relación a los dobles enlaces en los carbonos C-11 y C-12, de esta manera los compuestos **1**, **2**, **3** y **19** que presentan un doble enlace en C-11 hacen parte del grupo **A.2.1** y los compuestos **20** y **21** que no presentan el doble enlace en C-11 pero sí en C-12 se agrupan en la rama **A.2.2**. Ver Figura 4-8, derecha.

La clasificación en los subgrupos **A.1.1**, **A.1.2**, **A.2.1** y **A.2.2**, se muestra claramente en el dendrograma obtenido por medio del uso de las cargas parciales Gasteiger-Marsili y el método de enlace *ward*.

Respecto a los compuestos que forman la rama **B**, estos forman una estructura de pares de moléculas muy similares que se unen entre sí de manera sucesiva. Estos pares de moléculas corresponden a parejas de epímeros. En todos los dendrogramas se puede apreciar la partición de la rama **B** en la pareja de cembranos **15**, **16**, la cual se diferencia del resto de compuestos de este agrupamiento por la ausencia de un grupo funcional en el carbono C-3. Ver Figura 4-9.

En la descripción anterior se ha hecho referencia a un conjunto de carbonos los cuales parecen ser los más relevantes para caracterizar las moléculas, ya que permiten clasificar el conjunto de cembranos, estos carbonos son: C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11 y C-12. Otro carbono que se destaca en este conjunto de moléculas es el C-18, sobre el cual se tienen varios grupos funcionales como alcohol, acetoxi, aldehído.

Estos resultados muestran que los valores de las cargas parciales y el uso del agrupamiento jerárquico permite establecer grupos de cembranos, mediante características estructurales definidas por medio de la presencia o ausencia de grupos funcionales sobre ciertos carbonos de la estructura común de estos compuestos. Esto resalta la importante relación entre

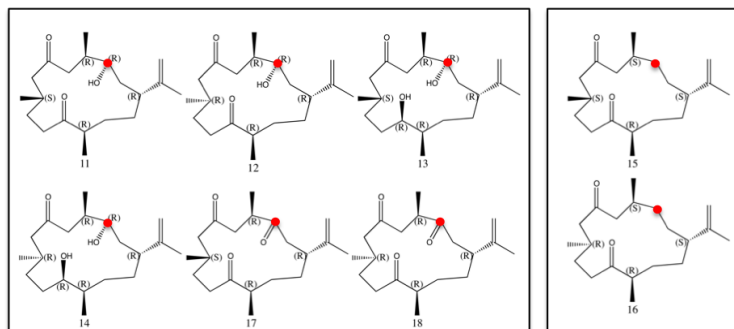


Figura 4-9.: Compuestos que conforman las ramas **B.1.** (izquierda) y **B.2.** (derecha). En rojo se señala el carbono C-3.

la estructura de estos compuestos y su caracterización por medio de las cargas parciales. También se establece que los grupos **A**, **B**, **A.1** y **A.2** se hallan de manera independiente al tipo de carga parcial evaluada y al método de unión empleado para hacer la clasificación.

Perfiles de cargas parciales

En las figuras 4-10, 4-11 y 4-12, se incluye el perfil de la cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili para los grupos hallados mediante la clasificación jerárquica, en relación a cada uno de los átomos de carbono de la estructura en común de los cembranos.

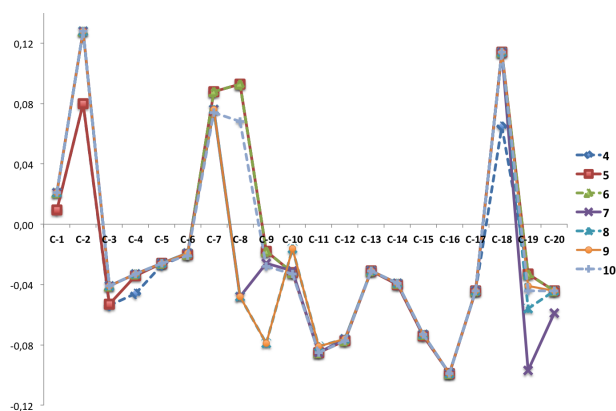


Figura 4-10.: Perfil de las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili para el grupo **A.1.**

En estas figuras se aprecia la similitud de los perfiles que describen el comportamiento de las cargas parciales atómicas de acuerdo a cada uno de los grupos a los que pertenecen. Se destaca el valor positivo de los átomos de carbono sobre los cuales se presenta un grupo funcional, es decir, en el caso del grupo **A.1** los carbonos C-2, C-7, C-8 y C-18, en el caso del grupo **A.2** los carbonos C-7, C-8, C-11 y C-18 y, finalmente en el grupo **B** los carbonos C-3, C-6 y C-11.

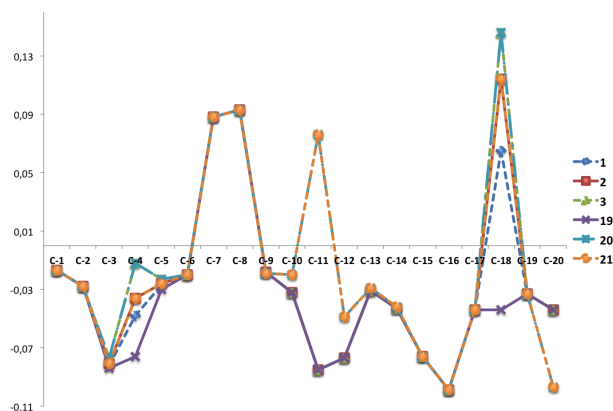


Figura 4-11.: Perfil de las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili para el grupo **A.2**.

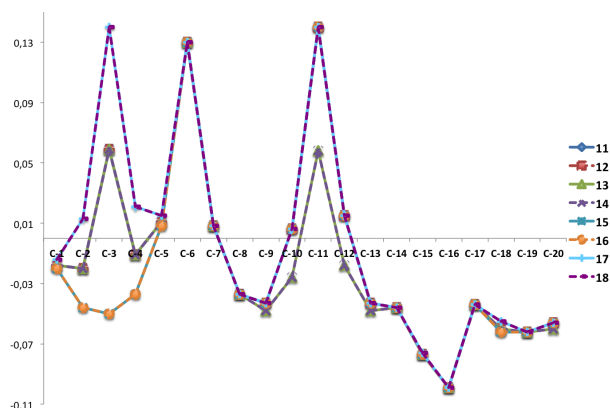


Figura 4-12.: Perfil de las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili para el grupo **B**.

Como es de esperar, se observa que los grupos funcionales alcohol, acetoxi y aldehído proporcionan un aumento en el valor de la carga parcial sobre el respectivo átomo de carbono donde se encuentran.

4.1.1. Análisis de componentes principales

Una manera cuantitativa de conocer cuáles son los carbonos relevantes en la estructura común de los cembranos, desde el punto de vista de las cargas parciales, es por medio de un Análisis de Componentes Principales (ACP). La desviación estándar, la proporción de la varianza explicada y la varianza acumulada de las cargas parciales correspondientes a las 5 componentes principales halladas a partir de los vectores de las cargas parciales Gasteiger-Marsili, se muestran en la Tabla 4-1. En esta tabla, se observa que las dos componentes principales logran explicar el 86 % de la varianza para este tipo de cargas parciales. Los

valores para el conjunto completo de componentes principales se encuentra en el anexo **A.2**.

Tabla 4-1.: Resultado del Análisis de Componentes Principales para las cargas parciales Gasteiger-Marsili y Mulliken.

Cargas parciales Gasteiger-Marsili					
Componente	1	2	3	4	5
Desviación estándar	0,1723020	0,07814969	0,05081578	0,04243505	0,02823416
Proporción de la varianza explicada	0,7139688	0,14687677	0,06210060	0,04330599	0,01917116
Proporción de la varianza acumulada	0,7139688	0,86084552	0,92294612	0,96625211	0,98542327
Cargas parciales Mulliken					
Componente	1	2	3	4	5
Desviación estándar	0,5179054	0,15926277	0,13096465	0,11125675	0,07404161
Proporción de la varianza explicada	0,80014833	0,07566555	0,05116557	0,03692516	0,01635390
Proporción de la varianza acumulada	0,80014833	0,87581382	0,92697939	0,96390455	0,98025845

En la gráfica de los valores propios correspondiente a cada componente principal *versus* las componentes principales, se tiene que el primer cambio de pendiente se da en la segunda componente, lo cual indica que dos componentes son suficientes para explicar la variación de las cargas parciales de Gasteiger-Marsili sobre los carbonos de la estructura central del conjunto de cembranos estudiados. Figura 4-13, izquierda.

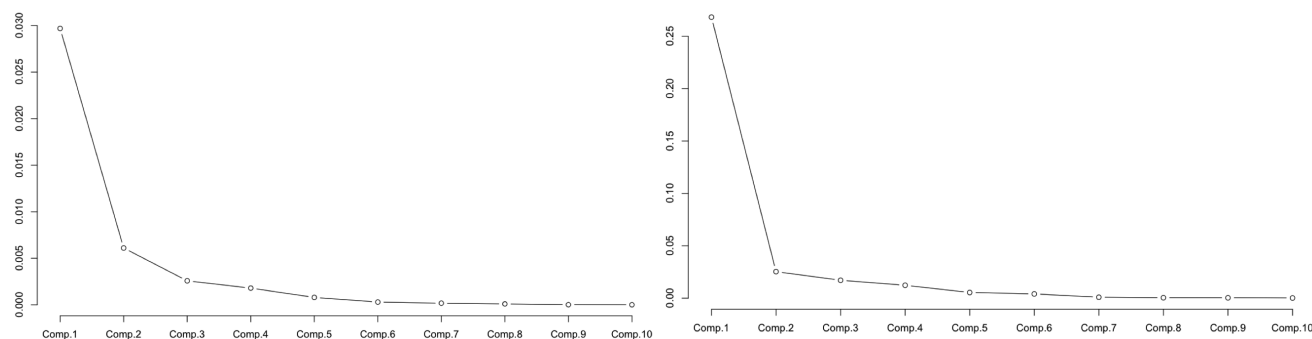


Figura 4-13.: Gráfica de los valores propios *versus* las componentes principales en el estudio de las cargas parciales Gasteiger-Marsili (izquierda) y Mulliken (derecha) sobre los carbonos de la estructura central de cembranos.

Con el fin de determinar cuales son los átomos de carbono que contribuyen mayoritariamente en las dos componentes principales, los cuales son suficientes para explicar la varianza de las cargas parciales Gasteiger-Marsili, se realizó la suma de los cuadrados de los puntajes de los factores de cada variable. Ver Tabla 4-2. En ella, se señalan los carbonos relevantes de acuerdo a su contribución a las componentes principales en el estudio de las cargas parciales Gasteiger-Marsili. Estos carbonos son: C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18.

Este análisis también se llevó a cabo para las cargas parciales Mulliken. Los resultados del análisis de componentes principales, desviación estandar, proporción de varianza y proporción acumulada, se muestran en la Tabla 4-1. En el ACP para las cargas parciales de

Tabla 4-2: Acumulado de la suma de los cuadrados del puntaje de factores de cada variable, obtenidos en el análisis de componentes principales en el estudio de cargas parciales Gasteiger-Marsili y Mulliken.

Gasteiger-Marsili			Mulliken		
	S1	S2		S1	S2
C-1	0,00	0,03	C-1	0,00	0,00
C-2	0,04	0,52	C-2	0,03	0,60
C-3	0,10	0,24	C-3	0,07	0,16
C-4	0,01	0,01	C-4	0,02	0,02
C-5	0,01	0,01	C-5	0,00	0,00
C-6	0,17	0,17	C-6	0,34	0,36
C-7	0,04	0,05	C-7	0,12	0,12
C-8	0,07	0,30	C-8	0,07	0,18
C-9	0,00	0,02	C-9	0,00	0,00
C-10	0,01	0,01	C-10	0,00	0,00
C-11	0,29	0,36	C-11	0,18	0,24
C-12	0,05	0,05	C-12	0,05	0,05
C-13	0,00	0,00	C-13	0,00	0,00
C-14	0,00	0,00	C-14	0,00	0,00
C-15	0,00	0,00	C-15	0,00	0,00
C-16	0,00	0,00	C-16	0,00	0,00
C-17	0,00	0,00	C-17	0,00	0,00
C-18	0,20	0,20	C-18	0,12	0,27
C-19	0,00	0,02	C-19	0,00	0,00
C-20	0,00	0,01	C-20	0,00	0,00

Mulliken, se muestra que las dos componentes principales logran explicar el 88 % de la varianza. Al igual que en el caso de las cargas parciales Gasteiger-Marsili, al graficar los valores propios en función de las componentes principales, se obtiene que el punto de inflexión se da en la segunda componente. Ver Figura 4-13, derecha. La suma de los cuadrados de los puntajes de los factores de cada variable para las cargas parciales de Mulliken (Tabla 4-2), muestra que los átomos de carbono relevantes son: C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18.

El análisis de componentes principales indica que las variables que describen el sistema, es decir, los átomos de carbono de la estructura en común de los cembranos que son relevantes de acuerdo a los valores de las cargas parciales ya sean Gasteiger-Marsili o Mulliken son: C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18, los cuales concuerdan con los átomos hallados como discriminantes en la descripción cualitativa realizada en la análisis del agrupamiento jerárquico.

Los resultados de clasificación obtenidos mediante el agrupamiento jerárquico, se pueden relacionar con los resultados del ACP por medio de una gráfica que señala los compuestos estudiados, así como, los vectores de las cargas parciales para los átomos de carbono de la estructura en común de los cembranos en función de las dos componentes principales. Ver Figura 4-14. En estas gráficas, se puede observar como los compuestos estudiados se aglomeran en grupos que corresponden a los principales grupos hallados en los dendrogramas de clasificación, de manera que se tienen sectores de la gráfica que concuerdan con los grupos A.1, A.2 y B. También, refleja cuales de estos carbonos se asocian o tienen mayor relevancia para

cada uno de los grupos de compuestos, por ejemplo, los compuestos que forman el grupo **B** se describen mayoritariamente por los valores de las cargas parciales de los átomos de carbono C-3, C-6 y C-11, los cuales definen a esta familia de compuestos, ya que sobre estos carbonos se tienen grupos funcionales altamente electronegativos que son particulares en su estructura.

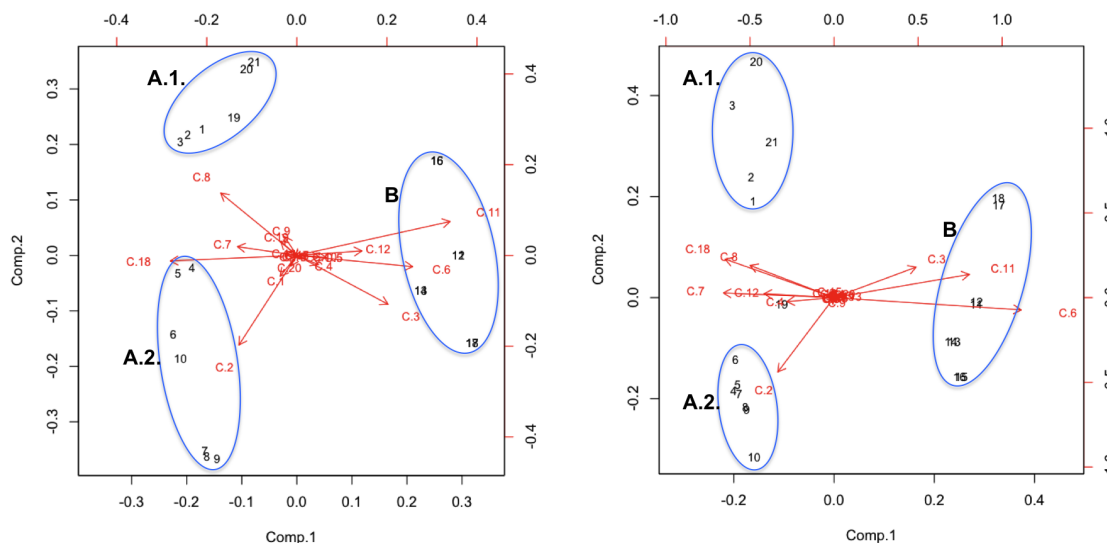


Figura 4-14.: Compuestos y carbonos en función de las dos principales componentes en el estudio de las cargas parciales Gasteiger-Marsili (izquierda) y Mulliken (derecha) sobre los carbonos de la estructura común de cembranos.

Para comprobar la suficiencia de los átomos de carbono relevantes, obtenidos en el análisis de componentes principales, se realizó nuevamente un agrupamiento jerárquico con una matriz de variables que sólo contiene los valores de las cargas parciales de estos átomos: C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18 (Ver Figuras 4-15 y 4-16). Los *clusters* o ramas obtenidas en estos nuevos dendrogramas corresponden a los mismos agrupamientos obtenidos al usar como variables las cargas parciales sobre los 20 átomos de carbono.

De esta manera, no solamente se puede reconocer que las cargas parciales son un buen descriptor local para la estructura de este conjunto de cembranos, sino que en la estructura se encuentran átomos que son relevantes por su variación en la carga parcial debido a la existencia de diferentes grupos funcionales, lo cual permite obtener una clasificación de estas moléculas en la que se preservan patrones estructurales.

4.1.2. Estereoquímica

La clasificación que se obtiene a partir del uso de las cargas parciales de los 20 carbonos comunes a los 21 cembranos o a las cargas correspondientes de los 8 carbonos que condensan

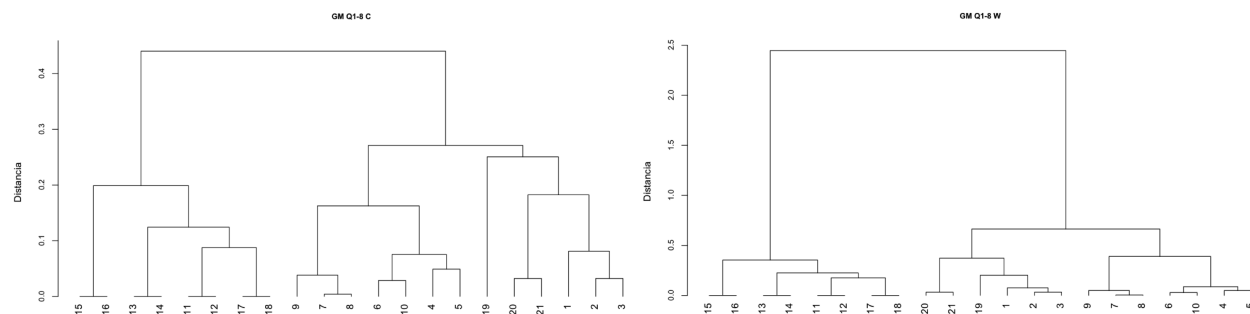


Figura 4-15.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico y el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha) para las cargas parciales Gasteiger-Marsili en los átomos C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18.

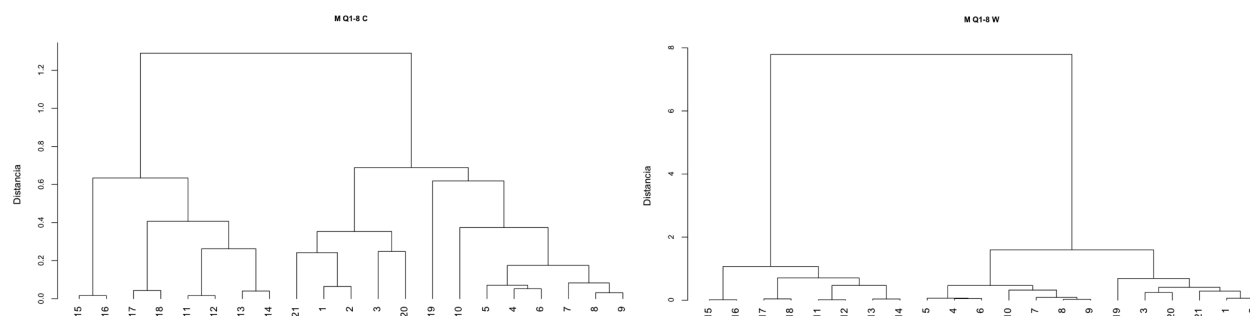


Figura 4-16.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico y el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha) para las cargas parciales Mulliken en los átomos C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12 y C-18.

la mayor variabilidad de las mismas, muestra relaciones que van más allá de las características estructurales hasta ahora expuestas. Así, entre estas relaciones se puede mencionar la hallada entre los compuestos de los diferentes grupos determinados en la clasificación con propiedades estructurales como la estereoquímica.

Se puede hacer referencia de estereoquímicas particulares en cada uno de los principales grupos, por ejemplo, en el grupo **A.1**, los compuestos presentan igual estereoquímica en los átomos de carbono C-1, C-2 y C-7, y en los dobles enlaces en C-3 y C-11 (Ver Tabla 4-3). Para el subconjunto formado por los compuestos **7**, **8** y **9** se observa que la estereoquímica solo tiene una variación en el doble enlace presente en el carbono C-8. En el caso de la rama **A.2**, hay dos subconjuntos formados por los compuestos **1 - 3**, **19** y los compuestos **20 -21**, los cuales exhiben estereoquímica idéntica en los centros quirales correspondientes a los átomos de carbonos C-1, C-3, C-7, C-8 y C-11, como se muestra en la Tabla 4-4.

Como se mencionó anteriormente, en el grupo **B** se encuentran clasificados los compuestos que forman parejas de epímeros en C-8; esta familia de compuestos tiene centros quirales en los átomos C-3, C-4, C-11 y C-12 que no se presentan en los otros cembranos. La estereoquímica de estos compuestos se muestra en la Tabla 4-5.

Tabla 4-3.: Estereoquímica de los compuestos del grupo **A.1.**

Compuesto	Átomo de carbono							
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-7	C-8	C-11	C-12
4	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
5	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
6	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
7	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	—	<i>E</i>	—
8	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>E</i>	<i>E</i>	—
9	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	—
10	<i>R</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—

Tabla 4-4.: Estereoquímica de los compuestos del grupo **A.2.**

Compuesto	Átomo de carbono							
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-7	C-8	C-11	C-12
1	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
2	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
3	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
19	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>E</i>	—
20	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>R</i>	—
21	<i>S</i>	—	<i>E</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>R</i>	—

Tabla 4-5.: Estereoquímica de los compuestos del grupo **B.**

Compuesto	Átomo de carbono							
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-7	C-8	C-11	C-12
11	<i>R</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	—	<i>S</i>	—	<i>R</i>
12	<i>R</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	—	<i>R</i>	—	<i>R</i>
13	<i>R</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	—	<i>S</i>	<i>R</i>	<i>R</i>
14	<i>R</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	—	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>R</i>
15	<i>S</i>	—	—	<i>S</i>	—	<i>S</i>	—	<i>R</i>
16	<i>S</i>	—	—	<i>S</i>	—	<i>R</i>	—	<i>R</i>
17	<i>R</i>	—	—	<i>R</i>	—	<i>S</i>	—	<i>R</i>
18	<i>R</i>	—	—	<i>R</i>	—	<i>R</i>	—	<i>R</i>

Cabe resaltar la importancia del estudio de cargas parciales atómicas en la caracterización estructural de los cembranos ya que permite encontrar grupos de compuestos que se relacionan entre sí mediante los grupos funcionales unidos a su estructura en común. Este estudio también permite destacar átomos de carbono, para los cuales el valor de la carga parcial contribuye de manera predominante, permitiendo establecer el mismo tipo de clasificación teniendo en cuenta únicamente la carga parcial en estos átomos. Finalmente, en esta clasificación se forman *clusters* que agrupan los compuestos de acuerdo a la estereoquímica que presentan en los centros quirales de los átomos de carbono del anillo central y a la isomería *E* o *Z* de los dobles enlaces.

5. Funcionalización

5.1. Bioactividad

Como se mencionó anteriormente, los cembranos son compuestos conocidos por su actividad biológica como *antifoulants*, tal actividad se establece comúnmente mediante ensayos de inhibición de formación de biopelículas e inhibición del *quorum sensing* (QS).

Para el conjunto de moléculas de estudio, la inhibición de formación de biopelículas fue determinada en poblaciones bacterianas de origen marino, para lo cual se usó una cepa de bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus*, y dos cepas de bacterias Gram negativas, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio harvey*; los resultados obtenidos se presentan como concentración inhibitoria máxima media (IC_{50}). A su vez, el ensayo de inhibición de QS fue evaluado usando como biosensor *Chromobacterium violaceum* y medido por la inhibición del pigmento violáceo en concentraciones de 2.5, 5.0, 7.5, 15.0 y 30.0 $\mu\text{g}/\text{disco}$ de cada compuesto. Estos resultados fueron determinados experimentalmente por el grupo de investigación “Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia”. Ver Tabla 5-1.

Como se observa en la tabla, los compuestos de la serie de cembranos estudiados son altamente activos en la inhibición de formación de biopelículas para las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus*, excepto en los compuestos **13** y **14**. Cuando el conjunto de cembranos fue evaluado contra las bacterias Gram negativas, *Pseudomonas aeruginosa*, se encontraron valores de IC_{50} menores a 56.1 ppm para todos, a excepción del compuesto **10**. En el caso de las bacterias Gram negativas *Vibrio harvey*, solo ocho de las moléculas estudiadas presentan inhibición de formación de biopelícula significativa a valores menores de 17.1 ppm de IC_{50} .

Al comparar los resultados de inhibición de formación de biopelícula entre las cepas de bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio harvey*), se observa que únicamente los compuestos **1**, **2**, **3**, **11**, **13**, **15** y **17** presentan alta actividad (IC_{50} menores a 17.1 ppm) para estos dos tipos de cepas. Los cembranos **4**, **5**, **12**, **14**, **16**, **18**, **19**, **20** y **21** mostraron ser activos solo contra la cepa *Pseudomonas aeruginosa* y únicamente el compuesto **6** es selectivo en la inhibición de la cepa *Vibrio harvey*. Los demás compuestos (**7** - **10**), no interfieren significativamente en la inhibición de formación de biopelícula de ninguna de las dos cepas de bacterias Gram negativas.

Tabla 5-1.: Resultados experimentales de inhibición de formación de biopelícula e inhibición de *quorum sensing*.

Compuesto	IC_{50}			Inhibición de <i>quorum sensing</i> ($\mu\text{g}/\text{disco}$)
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ppm) Gram +	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ppm) Gram -	<i>Vibrio harvey</i> (ppm) Gram -	
1	2	4.1	0.3	—
2	1.3	12.8	9.8	—
3	3.2	9.3	1	7.5
4	0.01	14.7	>100	—
5	0.3	5	>100	7.5
6	15.7	52.9	7.8	—
7	0.03	52.5	53.1	7.5
8	2.2	56.1	>100	2.5
9	3.1	56	>100	7.5
10	1.2	>100	>100	—
11	10.1	4	17.1	—
12	10	4.54	69.7	—
13	>100	11.5	11	7.5
14	>100	17.2	>100	—
15	20.9	9.2	0.35	—
16	1	6.4	>100	7.5
17	5.7	12.2	9.5	30
18	1.4	6.8	53.8	—
19	0.8	17.8	>100	—
20	0.5	8.3	>100	15
21	0.01	10.1	80.2	—

— No activo.

Los compuestos **3**, **5**, **7**, **8**, **9**, **13**, **16**, **17** y **20** tienen un efecto considerable en la inhibición de *quorum sensing*, siendo más activos a menor valor de $\mu\text{g}/\text{disco}$. En general los cembranos que son activos en la inhibición de *quorum sensing* también son activos en la inhibición de formación de biopelícula de las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus*.

5.2. Criterios para la funcionalización

Uno de los objetivos planteados en este trabajo es proponer nuevas estructuras de cembranos que posean actividad biológica *antifouling*. Como se expuso en la sección anterior, dado lo diverso de los resultados experimentales, por no mencionar lo complejo y distintos que podrían ser los mecanismos de interacción entre los cembranos y las bacterias, en una etapa inicial, se limitará la propuesta de nuevas estructuras de cembranos a compuestos que respondan a las características de un pequeño grupo que tiene resultados experimentales positivos. De esta manera, se toma como referente para el diseño de nuevos compuestos la estructura de aquellos cembranos que solo son activos en la inhibición del *quorum sensing*, es decir, los cembranos **3**, **5**, **7**, **8**, **9**, **13**, **16**, **17** y **20**, clasificados en la rama **A.1.1**.

Las principales características estructurales de estos nuevos compuestos, se determinaron teniendo en cuenta los grupos funcionales sobre la estructura común de estos cembranos, primordialmente, sobre los carbonos que se hallaron como relevantes mediante el análisis de componentes principales. Como resultado de todas las posibles combinaciones de los grupos funcionales de las moléculas mencionadas se obtuvo el siguiente conjunto preliminar de estructuras, Figura 5-1.

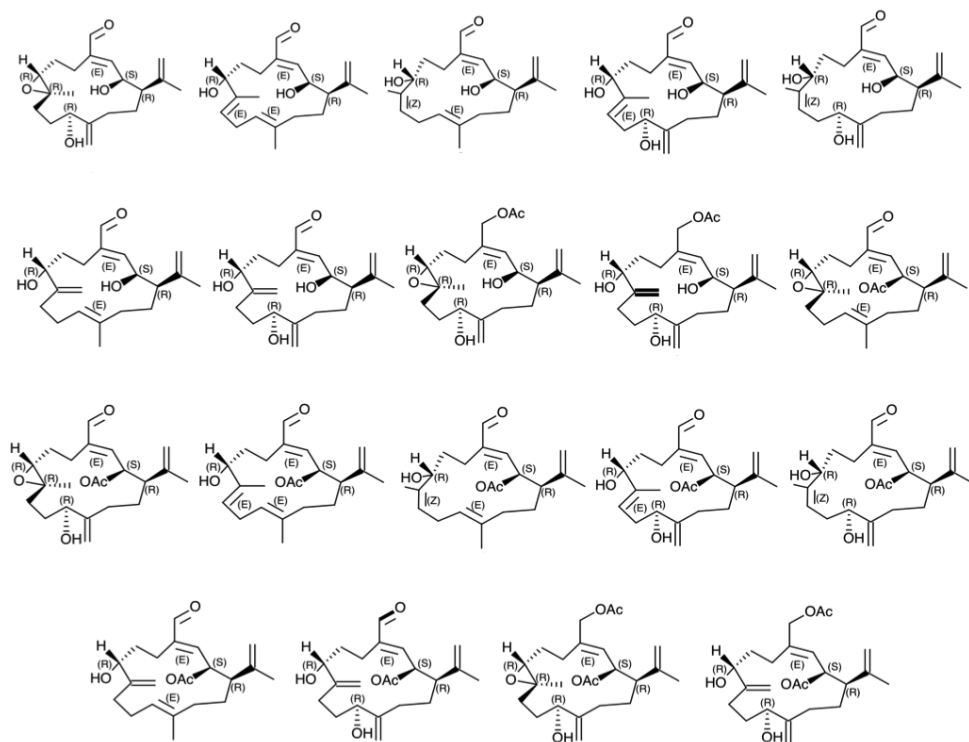


Figura 5-1.: Estructuras del conjunto preliminar de nuevos cembranos propuestos por funcionalización.

En esta etapa inicial de búsqueda de nuevos compuestos activos, se considero únicamente aquellas estructuras propuestas para las cuales el grupo de investigación “Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia” contaba con un precursor que permitiera su síntesis, de manera que, en un próximo trabajo se pueda comprobar experimentalmente los resultados hallados en esta tesis.

Las estructuras de los nuevos cembranos propuestos obtenidos del conjunto preliminar, se muestra en la Figura 5-2. La geometría de estas moléculas también fue optimizada con el mismo nivel de teoría, funcionales y conjunto de bases (DFT B3LYP 6-31G (d,p)), usadas con la serie inicial de cembranos 1 - 21.

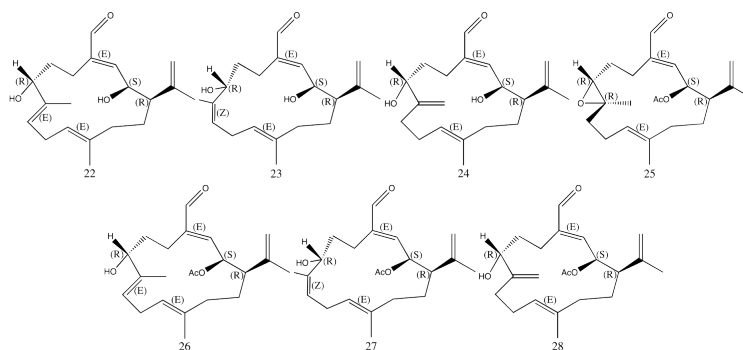


Figura 5-2.: Fórmulas estructurales de los cembranos propuestos por funcionalización.

5.3. Clasificación de los cembranos propuestos por la funcionalización en el conjunto de prueba

Para determinar el comportamiento de los nuevos compuestos propuestos (**22 - 28**), se emplearon los valores de las cargas parciales Gasteiger-Marsili y Mulliken, y el método de agrupamiento jerárquico, teniendo en cuenta los carbonos relevantes determinados mediante el análisis de componentes principales. Los resultados de estos agrupamientos al incluir todas las estructuras propuestas se muestra en las Figuras 5-3 y 5-4, para las cargas parciales Gasteiger-Marsili y Mulliken, respectivamente.

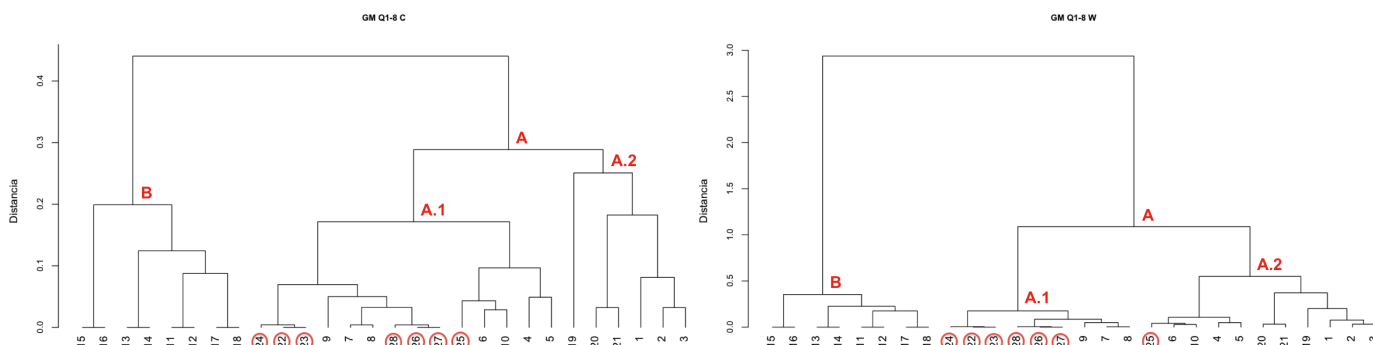


Figura 5-3.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico y el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha), para las cargas parciales Gasteiger-Marsili en los átomos C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18, incluyendo todas las moléculas propuestas.

En los dendrogramas de las Figuras 5-3 y 5-4, se observa que estos nuevos compuestos se agrupan principalmente en la rama **A.1**, independientemente del tipo de carga empleada y el método de enlace usado. Al realizar este mismo ejercicio incluyendo una a una de las nuevas estructuras propuestas se obtienen resultados similares, los dendrogramas correspondientes a cada una de las nuevas moléculas propuestas se encuentran en el Anexo **A.3**.

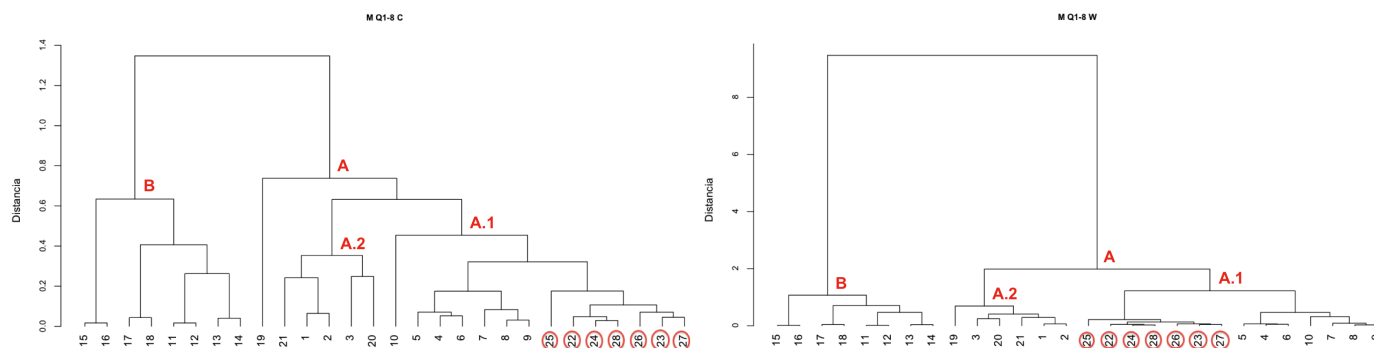


Figura 5-4.: Dendrogramas usando el agrupamiento jerárquico y el método de enlace completo (izquierda) y *ward* (derecha), para las cargas parciales Mulliken en los átomos C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18, incluyendo todas las moléculas propuestas.

Nótese que en el caso de las cargas parciales Gasteiger-Marsili, seis de los cembranos propuestos (**22**, **23**, **24**, **26**, **27** y **28**) se agrupan con los compuestos **7**, **8** y **9**. Recordemos, que el *cluster* **A.1.1** formado por los compuestos **7**, **8** y **9**, presenta alta inhibición de *quorum sensing* con valores de 7.5, 2.5, y 7.5 $\mu\text{g}/\text{disco}$, respectivamente. Así mismo, otra característica común a este grupo de compuestos, es que presentan gran inhibición de formación de biopelícula por las bacterias *Staphylococcus aureus* y son poco efectivos en la inhibición de formación de biopelícula de las bacterias Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio harvey*. Esto nos permite establecer que este es un conjunto de moléculas que tiene características bien definidas, ya que todos los resultados experimentales se preservan dentro del grupo y por lo tanto, podemos concluir que las moléculas propuestas que se unen a este *cluster* pueden compartir las mismas propiedades de actividad biológica.

A partir de estos resultados, y teniendo en cuenta el comportamiento que exhiben los agrupamientos individuales presentados en el Anexo **A.5**, que muestran como las moléculas propuestas se asocian siempre con los cembranos de mayor bioactividad, se proponen seis nuevas estructuras **22**, **23**, **24**, **26**, **27** y **28**, que posiblemente presentarán actividad inhibitoria del *quorum sensing* e inhibición de formación de biopelícula para las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus*.

6. Reactividad química

6.1. Potencial electrostático molecular

En este trabajo el potencial electrostático molecular (PEM), se aborda desde dos perspectivas diferentes. La primera, es por medio de representaciones gráficas, ya sea sobre alguna superficie definida como la de van der Waals o por el mapeo de isosuperficies de potencial a diferentes valores. La segunda, es a través de representaciones de las superficies de isopotencial de una molécula como un grafo o un árbol, la cual más adelante nos permitirá realizar comparaciones entre estas entidades matemáticas.

6.1.1. Representación gráfica del PEM

Como se mencionó en el capítulo 1, el PEM es un campo escalar definido en el espacio ordinario de tres dimensiones, por lo cual su estudio y comparación se hace la mayoría de las veces sobre regiones específicas. Dos de las regiones más comúnmente usadas son las superficies de van der Waals y los cortes de isopotencial.

Superficie de van der Waals

El potencial electrostático molecular para cada una de las moléculas de la serie de cembranos es mapeado sobre la superficie de van der Waals. En la Figura **6-1** se muestran dos vistas que corresponden a una de las caras del anillo principal de cada compuesto.

Una de las ventajas de este tipo de representación es que permite reconocer visualmente zonas en la molécula que son susceptibles de ataques nucleofílicos y electrofílicos. La reactividad nucleofílica se señala en la superficie como aquellas regiones de potencial altamente positivas y se representan en color azul. Como se ve en la figura, en los compuestos estudiados dichas regiones se encuentran localizadas principalmente sobre los hidrógenos del grupo alcohol y en menor medida alrededor los hidrógenos del metilo de los grupos acetoxi. Por otro lado, la reactividad electrofílica de los cembranos se encuentra localizada en los átomos de oxígeno, estas regiones tienen valores muy negativos de potencial y se señalan en color rojo.

En la Figura **6-1** se observa que la mayoría de estos compuestos exhiben valores neutros de potencial en la región localizada sobre el anillo principal, excepto los compuestos **2**, **3**, **5**, **6**,

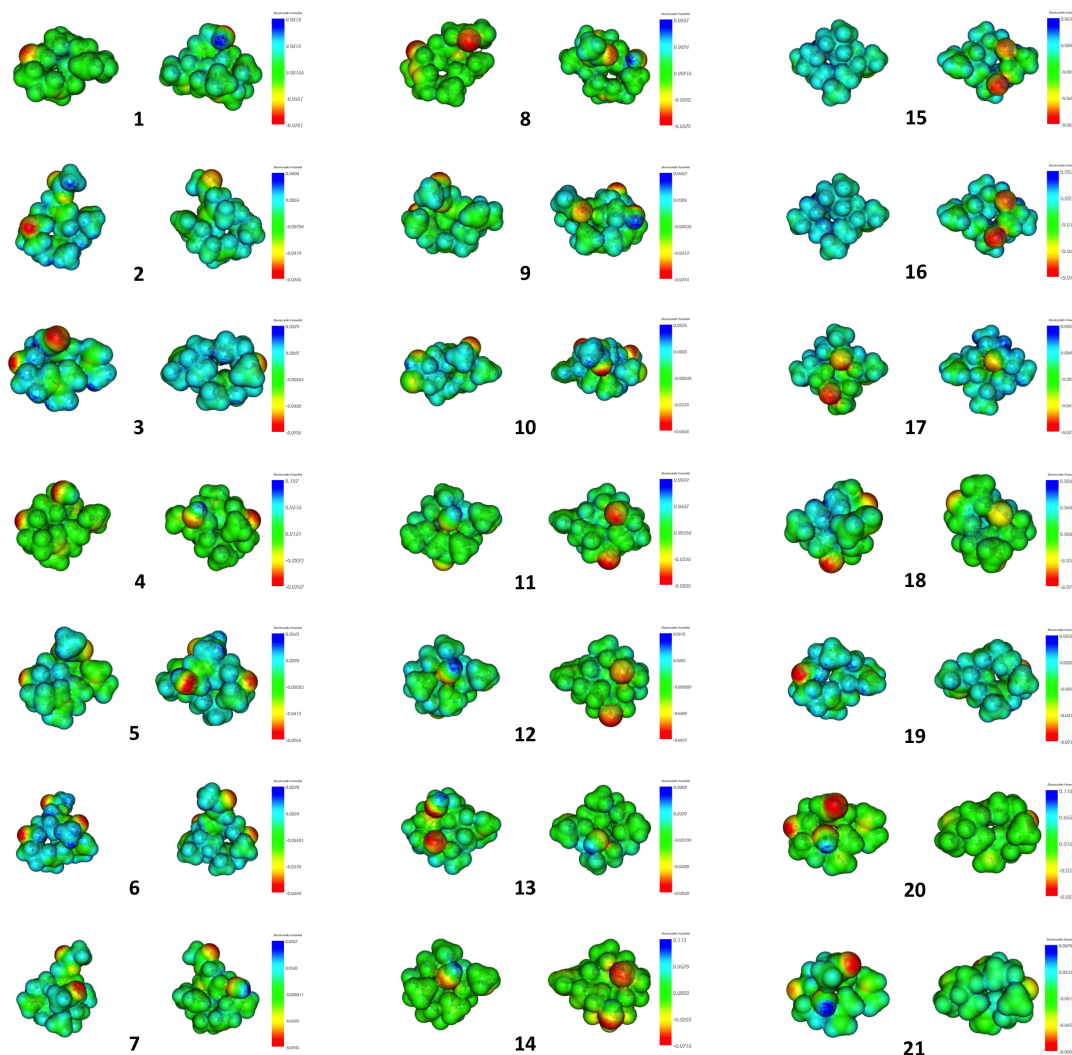


Figura 6-1.: Representación del potencial electrostático molecular sobre la superficie de van der Waals. Para cada molécula se muestran las dos caras del anillo principal.

10, 15, 16 y 19, en los cuales se observa la tendencia hacia valores ligeramente más negativos. Desafortunadamente, el ejercicio de comparación visual de los PEMs representados de esta forma, no permite encontrar regularidades que se puedan correlacionar con las respuestas biológicas que se han establecido para estas moléculas.

Isosuperficies de PEM en dos valores de potencial

Otra manera de representar el PEM gráficamente es mediante la selección de un valor de potencial, en este caso, el potencial positivo evaluado en 0.05 u.a. se representa en color azul y las regiones potencial negativo evaluadas -0.05 u.a. en se representan en color rojo, como se muestra en la Figura 6-2. Cada molécula es representada por cuatro imágenes que

corresponden a la rotación de 90° en el eje z del anillo principal, iniciando desde el grupo isopropileno en el carbono 1. En esta gráfica se observa que las regiones de PEM negativo están relacionadas con los átomos de oxígeno y se muestran como nubes localizadas sobre dichos átomos, mientras que el potencial electrostático molecular positivo forma una sola superficie cerrada sobre el esqueleto molecular, cubriendo todos los átomos. Debido a que el PEM positivo presenta esta distribución “homogénea” sobre la molécula, centraremos la atención en las regiones del PEM negativo.

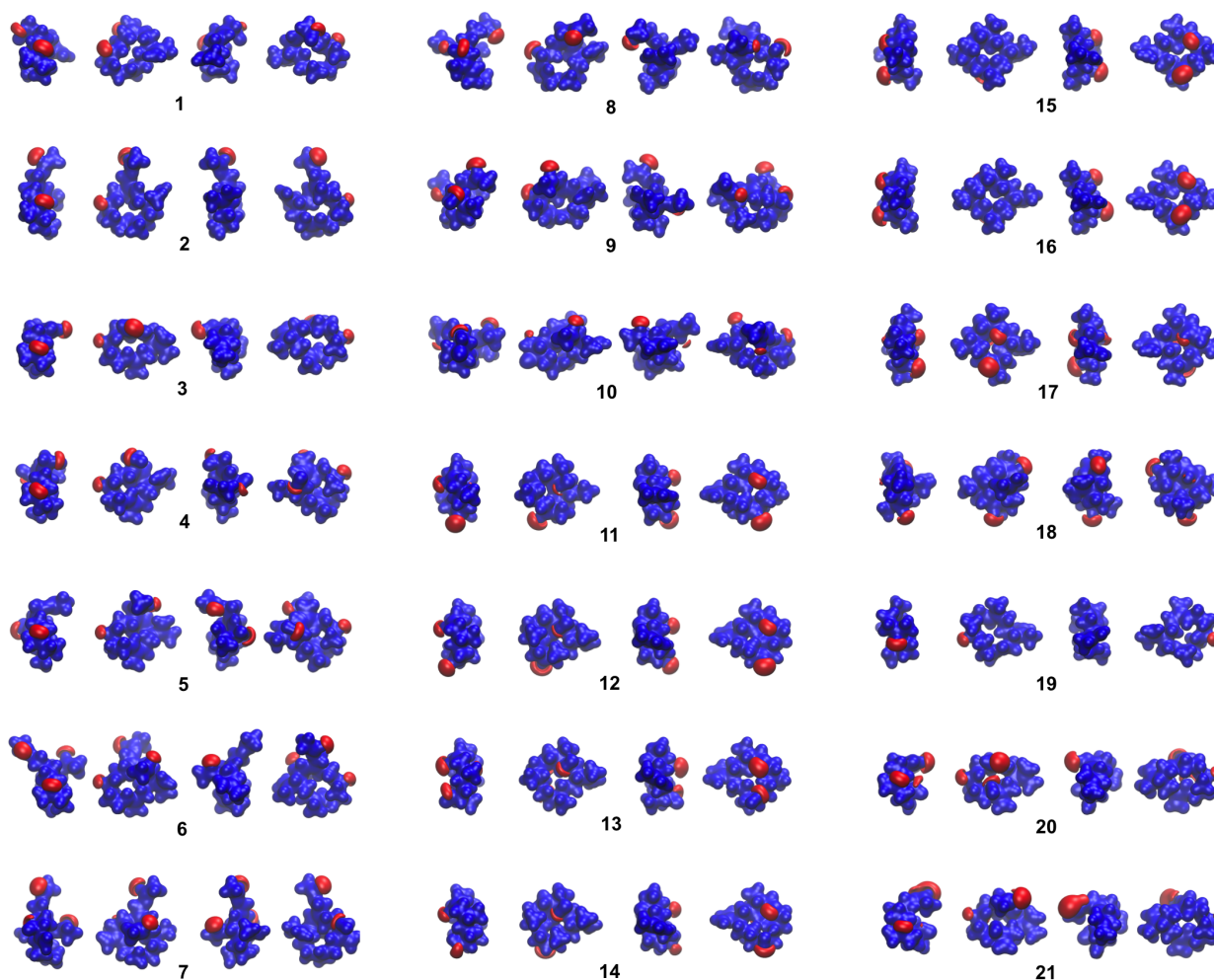


Figura 6-2.: Isosuperficies de PEM positivo a 0.05 u.a y PEM negativo a -0.05 u.a. Cada molécula se representa por cuatro vistas obtenidas por la rotación en el eje z del anillo principal, iniciando desde el lado que corresponde al C-1.

En la Figura 6-2 se observan ciertas similitudes en la forma y ubicación de las nubes del PEM negativo para las moléculas 11 a 16. Estas nubes de potencial negativo corresponden a los átomos de oxígeno que se ubican sobre los carbonos C-6 y C-11 de estos compuestos,

recordemos que ellos hacen parte de la familia de epímeros del grupo **B** de la clasificación hallada mediante las cargas parciales. También, se destacan similitudes en la forma y ubicación de las nubes de PEM negativo en los compuestos **20** y **21**, aunque en este último la nube ubicada en la parte superior presenta un tamaño ligeramente más grande debido a que encierra los átomos de oxígeno del grupo acetoxi.

A pesar de encontrar ciertas regularidades en las nubes de potencial para algunos compuestos la serie de cembranos, aún no es posible encontrar patrones que permitan correlacionar fuertemente este tipo de representación con su actividad biológica.

6.1.2. TARIS (Tree Analysis and Representation of Isopotential Surfaces)

La representación del PEM como un grafo –más precisamente como un árbol ponderado–, se da mediante la construcción de los nodos u hojas las cuales corresponden a isosuperficies que se generan sobre la molécula al hacer un barrido en un determinado intervalo de potencial, permitiendo codificar información geométrica y de relaciones de proximidad entre las superficies sucesivas de isopotencial.

Las propiedades exhibidas por las superficies de isopotencial, como la vecindad entre átomos o regiones de potencial electrostático, y el valor de las mismas, se reflejan en la conectividad de los nodos al interior del árbol. Más adelante, estos árboles serán los objetos matemáticos en los que se define la medida de similitud en términos de PEM entre los compuestos estudiados.

Árboles de PEM negativo

Usando el programa TARIS se obtienen árboles de potencial electrostático molecular negativo de cada una de las moléculas estudiadas en el intervalo entre -0.1 u.a. y -0.05 u.a. los cuales se muestran en la Figura **6-3**.

Estos árboles se construyen haciendo un barrido desde el valor más negativo del potencial de manera que los nodos iniciales o nodos hoja representan las primeras apariciones de isosuperficies de potencial negativo sobre la molécula, las cuales surgen por la presencia de regiones altamente electronegativas, principalmente dadas por los átomos de oxígeno y cloro que hacen parte de la estructura de los cembranos estudiados.

Las ramas principales (ramas que surgen desde el nodo raíz) que conforman cada uno de los árboles se pueden interpretar como el número de grupos funcionales con átomos electronegativos en la molécula. De esta manera, se observa en la Figura **6-3** que la molécula **19**, que solo posee un grupo funcional con oxígeno (grupo epóxido), presenta una sola rama

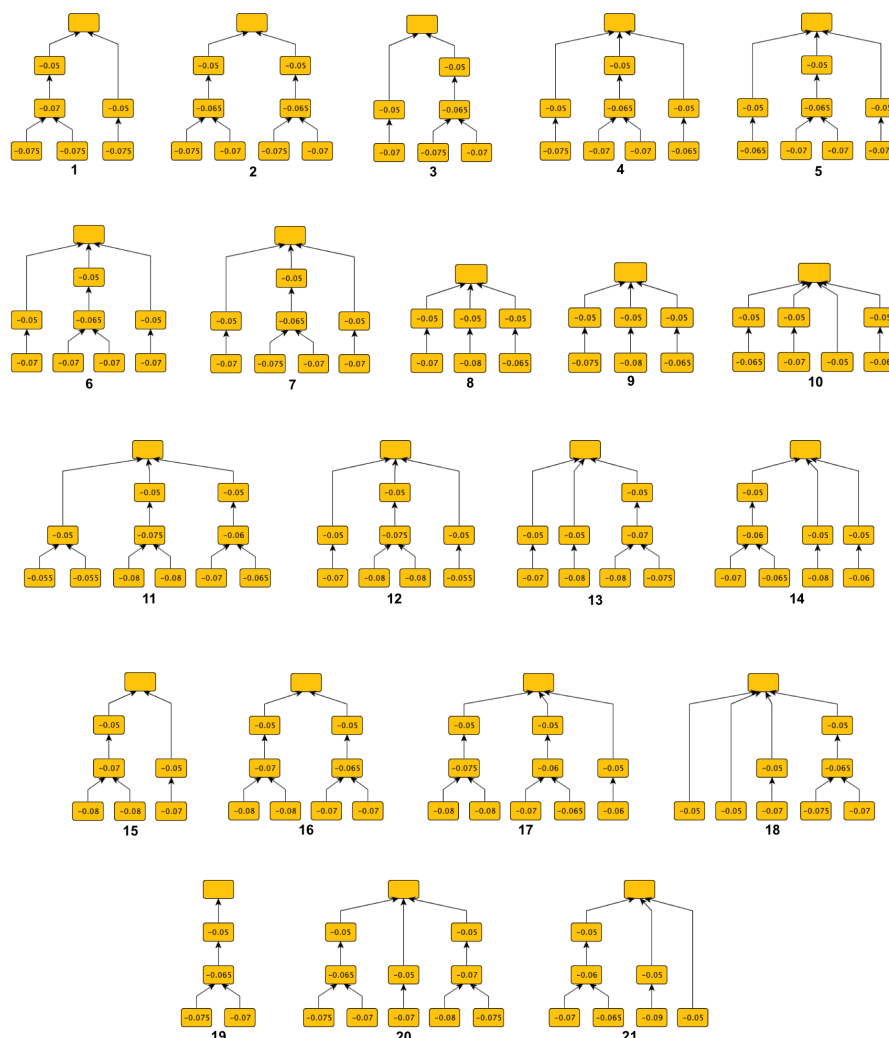


Figura 6-3.: Árboles de potencial electrostático molecular negativo. Intervalo $[-0.1, -0.05]$ u.a, tamaño de paso 0.005 u.a.

principal; así mismo, los compuestos **1**, **2**, **3**, **15** y **16**, que exhiben dos ramas principales, poseen dos grupos funcionales conformados por átomos de oxígeno. Aunque no es posible asignar exactamente un grupo funcional específico a cada una de las ramas, se puede inferir a partir del compuesto **19** que al grupo epóxido le corresponde la rama que tiene 2 nodos iniciales con valores de -0.075 y -0.07 u.a. y se unen en un nodo de valor -0.065 u.a.

Árboles de PEM positivo

La estructura del árbol de PEM positivo se construye teniendo en cuenta principalmente las interacciones con los núcleos de la molécula. De ahí, se sigue que el número de nodos iniciales en el árbol del potencial positivo sea igual al número de átomos en la molécula. Con el fin de ilustrar como está organizada la estructura del árbol del PEM positivo se toma

como ejemplo el árbol correspondiente al cembrano **1** obtenido en el intervalo de potencial entre 1.7 u.a y 0.5 u.a. Ver Figura 6-4.

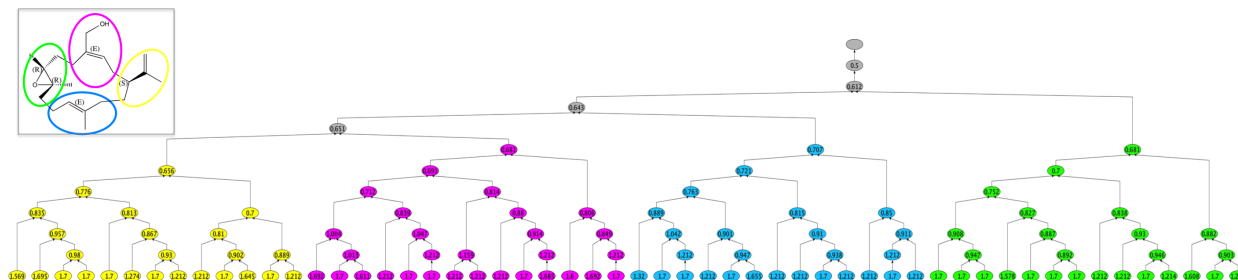


Figura 6-4.: Árbol de potencial electrostático molecular positivo para el compuesto **1**. Intervalo [1.7, 0.05] u.a, tamaño de paso 0.001 u.a.

Los valores más altos del PEM positivo están relacionados con la aparición de las primeras superficies de potencial debidas a los núcleos en la molécula, por ejemplo, en la Figura 6-4 se observa que el árbol tiene 54 nodos hojas que equivalen al número de átomos en la molécula **1**, estos nodos tienen valores recurrentes de potencial alrededor de 1.7, 1.6 y 1.2 u.a. La conectividad que se establece entre estas superficies, representadas en el árbol por los nodos iniciales, depende tanto de la cercanía entre los átomos como del tipo de átomo. Esto implica, que las conexiones entre los nodos iniciales, surgen como una representación de las uniones de los átomos en la molécula.

Ahora, al observar la rama en color amarillo de la Figura 6-4 se tiene que: la primera sub-rama, de izquierda a derecha, está conformada por cuatro nodos iniciales los cuales corresponden a la unión de cuatro átomos, en este caso, se asignan a un grupo metilo $-CH_3$; la segunda sub-rama de izquierda a derecha, representa el grupo $-C = CH_2$, y por último, la tercera sub-rama, está compuesta de un lado, por la unión de dos nodos que representa el grupo $-CH$ y por otro lado, por la unión de tres nodos que representa el grupo $-CH_2$. Se puede ver que la unión de los grupos mencionados anteriormente en el árbol se da de la siguiente manera, el grupo $-CH_2$ al grupo $-CH$, el grupo $-C = CH_2$ al grupo $-CH_3$ y finalmente, la unión de todas las sub-ramas que representan a estos grupos en un solo nodo. Esta rama en el árbol, representa el fragmento molecular que se señala con el círculo de color amarillo sobre la estructura de la molécula en la Figura 6-4. Este mismo razonamiento se puede aplicar a las tres restantes ramas del árbol. La correspondencia entre las ramas del árbol de potencial positivo y los fragmentos moleculares, se llevó a cabo mediante la verificación gráfica en 3 dimensiones de las isosuperficies paso a paso en el intervalo de potencial usado. De esta manera, el árbol de PEM positivo puede descomponerse en ramas principales que se relacionan con fragmentos moleculares hasta llegar a los átomos que conforman la molécula.

Comparación entre árboles de PEM

A este punto se ha señalado que los árboles nos permiten representar de manera condensada las isosuperficies de potencial electrostático tanto positivo como negativo de una molécula. Ahora, con el fin de hallar similitudes entre la serie de cembranos en términos de árboles de potencial, se hace uso de la distancia de edición propuesta por Marin, Aguirre y Daza (2008), la cual se basa en una secuencia óptima de operaciones necesarias para convertir un árbol en otro. Con el resultado de esta distancia se puede establecer la similitud entre moléculas que se representada por medio de un dendrograma como se muestra en la Figura 6-5.

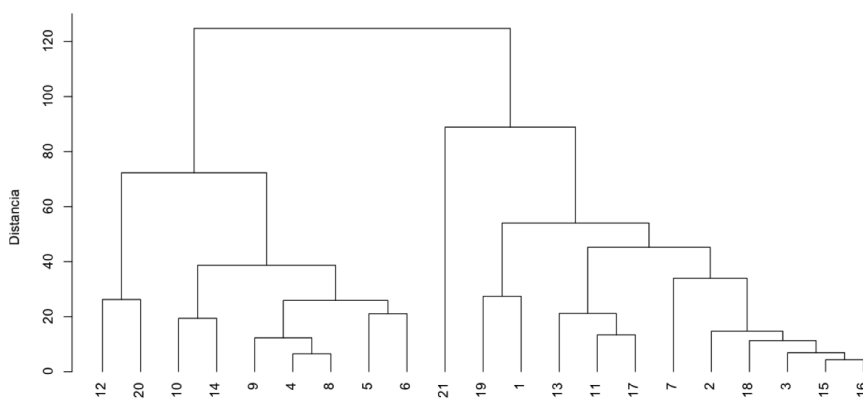


Figura 6-5.: Dendrograma de similitud entre árboles de PEM negativo.

En este dendrograma se observa una partición de la serie de cembranos en dos conjuntos. El primero está conformado por los compuestos **4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 14 y 20**, y el segundo por los compuestos **1, 2, 3, 7, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19 y 21**.

Al comparar los resultados de los agrupamientos del dendrograma a partir del PEM negativo y los agrupamientos obtenidos con las cargas parciales, vemos que la partición de la serie de cembranos no es la misma, es decir, en este caso el PEM negativo no permite evidenciar las relaciones estructurales, ni de estereoquímica que se habían establecido anteriormente para los tres grupos principales hallados mediante las cargas parciales.

La partición del grupo de cembranos por medio del PEM negativo, no se puede relacionar con la actividad de inhibición de *quorum sensing*, esto teniendo en cuenta que los compuestos activos en este ensayo son **3, 5, 7, 8, 9, 13, 16, 17 y 20**, y según el dendrograma de similitud, dichos compuestos se encuentran en diferentes ramas. De igual manera, no es posible establecer alguna relación con los resultados experimentales de inhibición de formación de biopelículas o de inhibición de *quorum sensing*.

6.2. Índices de reactividad

Según se presentó en la sección 3.6, los valores de HOMO y LUMO son ampliamente usados para evaluar índices de reactividad como el potencial de ionización I , la afinidad electrónica A , la electronegatividad χ , la dureza química η , el potencial de ionización μ , la suavidad química S y la electrofilia ω . En la Tabla **6-1** se recogen los resultados del cálculo de cada uno de estos parámetros para la serie de cembranos.

Tabla 6-1.: Índices de reactividad obtenidos a partir de los orbitales HOMO y LUMO.

Compuesto	I	A	χ	η	μ	S	ω
1	0.22736	-0.00382	-0.11177	0.11559	0.11177	8.65127	0.05404
2	0.23329	-0.01491	-0.10919	0.12410	0.10919	8.05802	0.04804
3	0.23049	0.05818	-0.14434	0.08616	0.14434	11.60699	0.12090
4	0.23466	-0.00019	-0.11724	0.11743	0.11724	8.51607	0.05852
5	0.23374	0.00082	-0.11728	0.11646	0.11728	8.58664	0.05905
6	0.23257	-0.00402	-0.11428	0.11830	0.11428	8.45344	0.05520
7	0.23014	-0.00146	-0.11434	0.11580	0.11434	8.63558	0.05645
8	0.21309	0.00147	-0.10728	0.10581	0.10728	9.45090	0.05439
9	0.22906	0.01024	-0.11965	0.10941	0.11965	9.13993	0.06542
10	0.22689	0.00459	-0.11574	0.11115	0.11574	8.99685	0.06026
11	0.22726	0.01946	-0.12336	0.10390	0.12336	9.62464	0.07323
12	0.22925	0.01936	-0.12431	0.10495	0.12431	9.52880	0.07362
13	0.23415	0.01133	-0.12274	0.11141	0.12274	8.97585	0.06761
14	0.23956	0.01958	-0.12957	0.10999	0.12957	9.09174	0.07632
15	0.23448	0.01916	-0.12682	0.10766	0.12682	9.28850	0.07469
16	0.23462	0.01801	-0.12632	0.10831	0.12632	9.23318	0.07366
17	0.23058	0.02613	-0.12836	0.10223	0.12836	9.78234	0.08058
18	0.23847	0.03615	-0.13731	0.10116	0.13731	9.88533	0.09319
19	0.17211	0.09038	-0.13125	0.04087	0.13125	24.47082	0.21076
20	0.23353	0.08426	-0.15890	0.07464	0.15890	13.39854	0.16914
21	0.15098	0.09445	-0.12272	0.02827	0.12272	35.37944	0.26639

Dos de los más importantes indicadores de reactividad global para predecir la susceptibilidad y el tipo de reacciones que sufre un reactivo son probablemente el potencial químico μ y la dureza química η . Como regla, un compuesto con un alto valor de potencial químico, es un buen electrodonor, mientras que, un compuesto con un valor pequeño de potencial químico es un buen electroceptor. La dureza química, está relacionada con la estabilidad de un compuesto, es decir, altos valores de η indican una baja reactividad. Teniendo en cuenta lo anterior, en términos generales se observa que los compuestos que presentan los valores más altos de potencial químico son, **3**, **18**, **19** y **20**, y aquellos que tienen valores más bajos son **1**, **2** y **8**. A partir de los valores de dureza química se tiene que los compuestos que tienden a ser más reactivos son **19** y **21**.

Usualmente en los estudios de cuantitativos de relación estructura actividad (QSAR), se

realizan tratamientos matemáticos de los descriptores como regresiones lineales múltiples; dado que no todos los compuestos estudiados poseen valores experimentales de actividad, es necesario proceder de manera alternativa en la búsqueda de patrones y regularidades que se puedan correlacionar con la actividad. Con el fin de hallar tendencias entre los índices de reactividad y los resultados experimentales de inhibición de formación de biopelícula e inhibición de *quorum sensing*, se realizaron las gráficas 6-6, 6-7, 6-8 y 6-9.

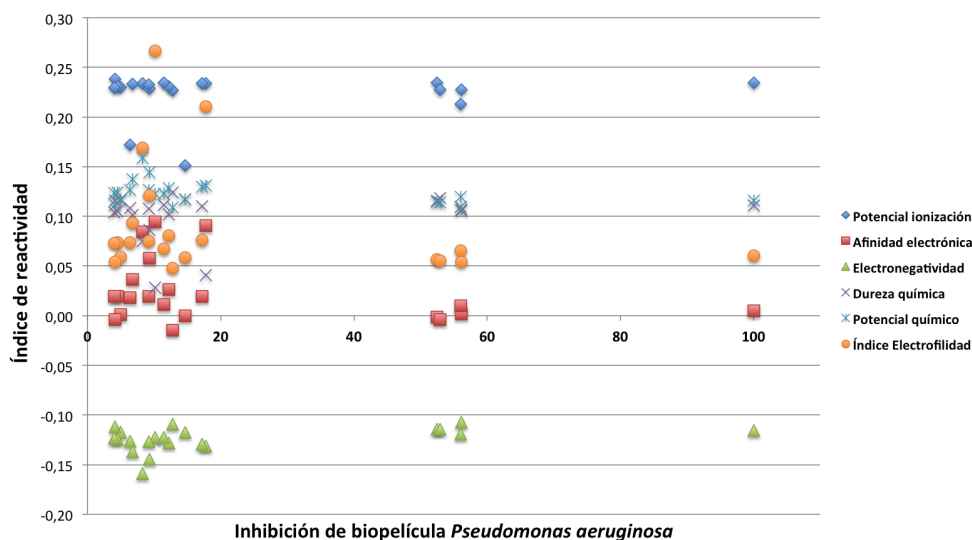


Figura 6-6.: Actividad de inhibición de biopelícula *Pseudomonas Aeruginosa* (ppm) vs índices de reactividad (u.a).

Las figuras 6-6, 6-7 y 6-8 muestran que los valores de los índices de reactividad en general poseen una tendencia constante respecto a la inhibición de formación de biopelícula en los tres tipos de bacterias. En la inhibición de formación de biopelícula por bacterias *Pseudomonas Aeruginosa*, se ve claramente que se establecen tres grupos de actividad, en los cuales los índices no cambian sustancialmente, excepto en el rango de actividad entre 0-20 ppm que presenta las mayores variaciones de los índices, particularmente para los índices de electrofilidad y afinidad electrónica. Un comportamiento similar se observa en los índices de reactividad respecto a la inhibición de formación de biopelícula por bacterias *Vibrio harveyi* (ver Figura 6-7), en este caso la mayor variación se da para el índice de electrofilidad pero no se observa ninguna tendencia con respecto a la actividad de inhibición de esta bacteria. La gráfica de inhibición de formación de biopelícula de *Staphylococcus aureus* vs los índices de reactividad muestra que en los dos grupos de actividad nuevamente la mayor variación se da para los índices de electrofilidad y afinidad electrónica. Con estos resultados no es posible hallar una relación que permita explicar los resultados de la actividad de inhibición de formación de biopelícula, dado que las variaciones en los índices se observan principalmente en los valores de alta actividad (rango entre 0-20 ppm).

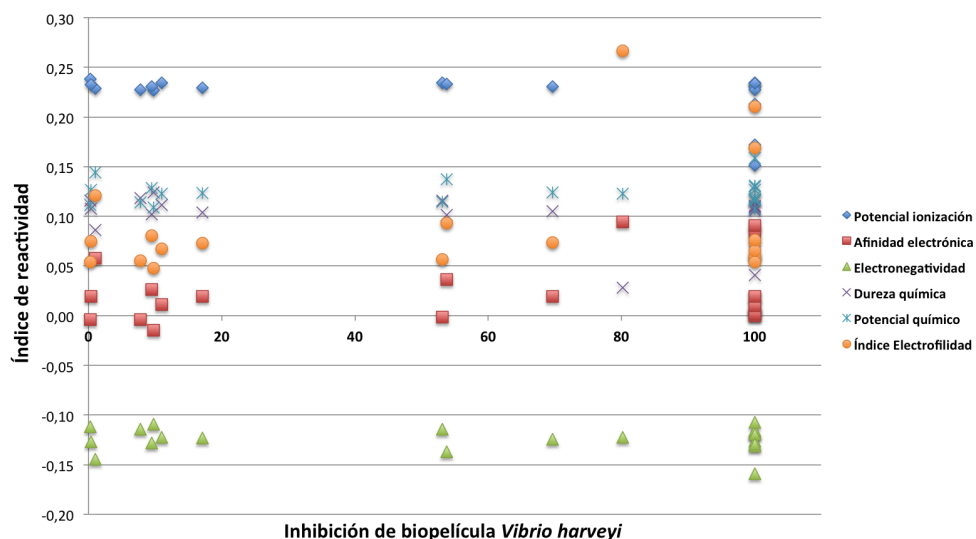


Figura 6-7.: Actividad de inhibición de biopelícula *Vibrio harveyi* (ppm) vs índices de reactividad (u.a.).

La gráfica de inhibición de *quorum sensing* vs índices de reactividad, muestra que no se puede establecer una relación directa, esto debido a que solo se tiene un dato para los valores de 2,5, 15 y 30 $\mu\text{g}/\text{disco}$, por lo tanto, para establecer una relación entre los índices de reactividad y la inhibición de QS, es necesario tener un mayor número de datos experimentales.

Dado que los intentos por hallar una correlación fueron infructuosos, se puede sugerir que la acción de los compuestos estudiados puede llevarse a cabo por mecanismos distintos, de manera que los determinantes estructurales o de reactividad empleados no muestran un grado de correlación global, pues el objetivo químico es diferente y por lo mismo su representación.

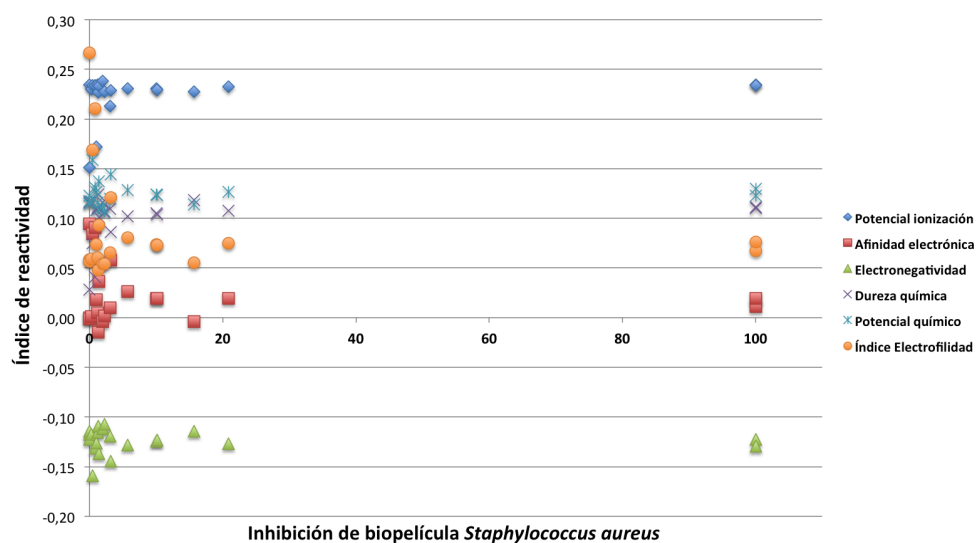


Figura 6-8.: Actividad de inhibición de biopelícula *Staphylococcus aureus* (ppm) vs índices de reactividad (u.a.).

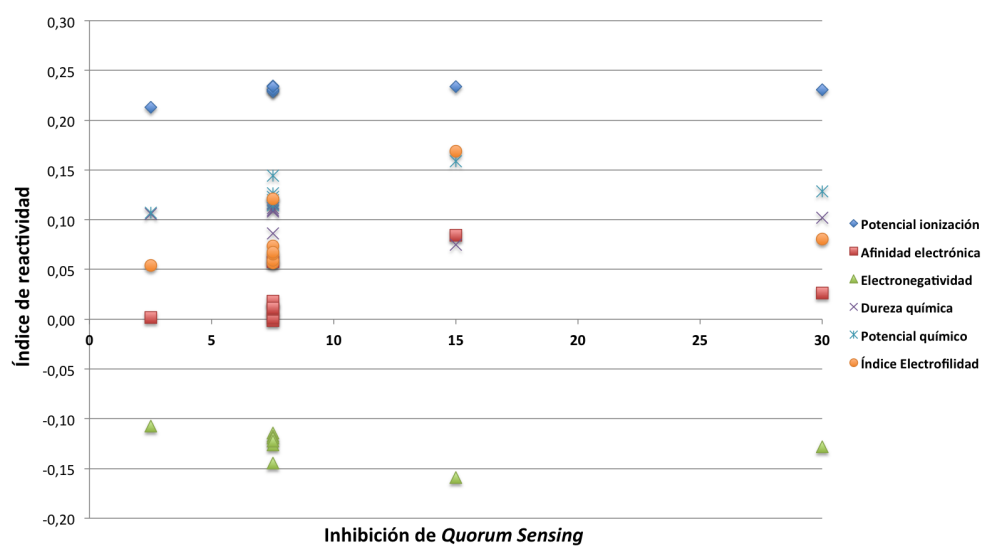


Figura 6-9.: Actividad de inhibición de *Quorum sensing* (μg/disco) vs índices de reactividad (u.a.).

7. Conclusiones y recomendaciones

7.1. Conclusiones

El estudio de los dos modelos de cargas parciales atómicas — Gasteiger-Marsili y Mulliken — sobre los átomos de carbono del anillo que componen la estructura común de la serie de cembranos, permitió clasificar estos compuestos en los mismos grupos independiente a la técnica de agrupamiento usada. De esta manera, se pudo establecer que las cargas parciales atómicas pueden ser usadas como un descriptor local que relaciona estructuralmente estos compuestos. Esta clasificación permitió agrupar la serie de cembranos en grupos de acuerdo a la estereoquímica que presentan sus centros quirales, reflejando información relevante sobre la estructura química de estos compuestos.

El análisis de componentes principales permitió reducir el número de variables para el sistema estudiado, conservando el mismo tipo de clasificación de la serie de cembranos. Asimismo, se determinó cuales son los átomos de carbono de la estructura común que son relevantes para realizar esta clasificación.

La técnica de agrupamiento usada permitió clasificar la serie de cembranos en tres grupos principales, grupo **A.1:** 4 - 10, grupo **A.2:** 1 - 3, 19 - 21, y grupo **B:** 11 - 18. Estos grupos, están dados por los cembranos que solo varían su estereoquímica en C-11, el grupo de cembranos que solo varían su estereoquímica en C-8 y el conjunto de cembranos que contiene las parejas de epímeros. El subcluster del grupo 2 conformado por los compuestos **7 - 9** tiene un patrón definido respecto a la actividad biológica de los cembranos siendo activos frente a la inhibición de formación de biopelícula de la cepa gram positiva *Staphylococcus aureus* e inhibición del *quorum sensing*.

Teniendo en cuenta las características estructurales de los compuestos de la serie original de cembranos (grupos funcionales sobre el anillo de átomos de carbono y estereoquímica) que presentan mayor actividad y dada la clasificación de esta serie, se propuso como posibles cembranos activos en la inhibición de formación de biopelícula de la cepa gram positiva *Staphylococcus aureus* e inhibición del *quorum sensing* 6 nuevas moléculas.

Desafortunadamente, para la reactividad química de la serie de cembranos aún no se ha podido establecer una relación directa con el potencial electrostático molecular, ni con los

índices de reactividad evaluados. Esto posiblemente, se debe a la complejidad de los procesos involucrados tanto en la formación de biopelículas como en la comunicación celular mediada por el *quorum sensing*.

7.2. Recomendaciones

Se plantea a futuro el estudio de otras propiedades electrostáticas que permitan complementar el estudio de la estructura electrónica de esta serie de cembranos.

Se espera que las nuevas estructuras propuestas sean sintetizadas y con miras a mejorar la bioactividad observada en la serie original de cembranos. La serie de compuestos estudiados así como los compuestos propuestos con actividad promisorio se espera que sean usados a futuro industrialmente en la aplicación a pinturas y/o recubrimientos *antifouling*.

También se sugiere utilizar otro tipo de estudios como el docking con el fin de clarificar las cuales son los parámetros estructurales que definen la reactividad de esta serie de cembranos. Esta última requiere que se precise la diana sobre la que se da la acción del cembrano.

A. Anexo

A.1. Cargas parciales

Tabla A-1.: Valores de las cargas parciales Gasteiger-Marsili.

	Átomo de carbono																			
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
1	-0.017	-0.028	-0.082	-0.048	-0.027	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.043	-0.076	-0.099	-0.044	0.065	-0.033	-0.044
2	-0.017	-0.028	-0.081	-0.036	-0.026	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.043	-0.076	-0.099	-0.044	0.114	-0.033	-0.044
3	-0.017	-0.028	-0.077	-0.012	-0.023	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.043	-0.076	-0.099	-0.044	0.146	-0.033	-0.044
4	0.010	0.080	-0.054	-0.046	-0.027	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.040	-0.074	-0.099	-0.044	0.065	-0.033	-0.044
5	0.010	0.080	-0.053	-0.034	-0.026	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.040	-0.074	-0.099	-0.044	0.114	-0.033	-0.044
6	0.021	0.130	-0.041	-0.033	-0.026	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.039	-0.073	-0.099	-0.044	0.114	-0.033	-0.044
7	0.021	0.130	-0.041	-0.033	-0.026	-0.019	0.076	-0.048	-0.026	-0.031	-0.085	-0.076	-0.031	-0.039	-0.073	-0.099	-0.044	0.114	-0.097	-0.059
8	0.021	0.130	-0.041	-0.033	-0.026	-0.019	0.076	-0.048	-0.079	-0.016	-0.081	-0.076	-0.031	-0.039	-0.073	-0.099	-0.044	0.114	-0.056	-0.044
9	0.021	0.130	-0.041	-0.033	-0.026	-0.019	0.076	-0.048	-0.079	-0.016	-0.081	-0.076	-0.031	-0.039	-0.073	-0.099	-0.044	0.114	-0.041	-0.044
10	0.021	0.130	-0.041	-0.033	-0.026	-0.021	0.074	0.068	-0.028	-0.033	-0.085	-0.077	-0.031	-0.039	-0.073	-0.099	-0.044	0.114	-0.044	-0.044
11	-0.018	-0.020	0.059	-0.011	0.011	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.060	-0.062	-0.056
12	-0.018	-0.020	0.059	-0.011	0.011	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.060	-0.062	-0.056
13	-0.018	-0.020	0.059	-0.011	0.011	0.130	0.008	-0.037	-0.048	-0.026	0.058	-0.018	-0.048	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.060	-0.062	-0.060
14	-0.018	-0.020	0.059	-0.011	0.011	0.130	0.008	-0.037	-0.048	-0.026	0.058	-0.018	-0.048	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.060	-0.062	-0.060
15	-0.020	-0.046	-0.050	-0.037	-0.008	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.062	-0.062	-0.056
16	-0.020	-0.046	-0.050	-0.037	-0.008	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.077	-0.099	-0.044	-0.062	-0.062	-0.056
17	-0.014	0.013	0.140	0.021	0.015	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.076	-0.099	-0.044	-0.055	-0.062	-0.056
18	-0.014	0.013	0.140	0.021	0.015	0.130	0.008	-0.037	-0.043	0.006	0.140	0.015	-0.043	-0.046	-0.076	-0.099	-0.044	-0.055	-0.062	-0.056
19	-0.017	-0.028	-0.084	-0.076	-0.030	-0.020	0.088	0.093	-0.018	-0.032	-0.085	-0.077	-0.031	-0.043	-0.076	-0.099	-0.044	-0.033	-0.033	-0.044
20	-0.017	-0.028	-0.077	-0.012	-0.023	-0.020	0.088	0.093	-0.019	-0.020	0.076	-0.049	-0.029	-0.042	-0.076	-0.099	-0.044	0.146	-0.033	-0.097
21	-0.017	-0.028	-0.081	-0.036	-0.026	-0.020	0.088	0.093	-0.019	-0.020	0.076	-0.049	-0.029	-0.042	-0.076	-0.099	-0.044	0.114	-0.033	-0.097

Tabla A-2.: Valores de las cargas parciales Mulliken.

	Átomo de carbono																			
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20
1	-0.112	-0.207	-0.128	0.094	-0.235	-0.187	0.120	0.275	-0.199	-0.217	-0.095	0.115	-0.232	-0.161	0.169	-0.289	-0.369	0.014	-0.340	-0.370
2	-0.105	-0.226	-0.091	0.048	-0.254	-0.193	0.125	0.269	-0.183	-0.232	-0.116	0.144	-0.235	-0.178	0.180	-0.290	-0.373	0.047	-0.344	-0.370
3	-0.112	-0.242	-0.072	0.120	-0.249	-0.221	0.127	0.280	-0.205	-0.219	-0.115	0.120	-0.227	-0.186	0.178	-0.295	-0.370	0.254	-0.343	-0.372
4	-0.108	0.146	-0.151	0.091	-0.229	-0.209	0.124	0.280	-0.203	-0.223	-0.117	0.117	-0.236	-0.197	0.155	-0.293	-0.363	0.013	-0.341	-0.369
5	-0.120	0.137	-0.105	0.106	-0.240	-0.212	0.125	0.282	-0.203	-0.222	-0.116	0.119	-0.236	-0.179	0.114	-0.293	-0.366	-0.015	-0.342	-0.370
6	-0.116	0.119	-0.127	0.050	-0.267	-0.204	0.122	0.280	-0.201	-0.222	-0.111	0.126	-0.228	-0.189	0.164	-0.294	-0.368	0.049	-0.345	-0.372
7	-0.113	0.118	-0.133	0.059	-0.230	-0.203	0.118	0.150	-0.237	-0.219	-0.139	0.152	-0.235	-0.186	0.184	-0.296	-0.374	0.044	-0.312	-0.379
8	-0.124	0.120	-0.105	0.084	-0.220	-0.219	0.108	0.136	-0.110	-0.252	-0.117	0.137	-0.237	-0.189	0.148	-0.294	-0.366	-0.002	-0.396	-0.371
9	-0.116	0.118	-0.100	0.108	-0.271	-0.217	0.125	0.118	-0.148	-0.244	-0.113	0.120	-0.242	-0.184	0.146	-0.280	-0.368	-0.009	-0.370	-0.385
10	-0.124	0.121	-0.133	0.098	-0.269	-0.196	0.179	-0.085	-0.182	-0.211	-0.127	0.107	-0.234	-0.193	0.161	-0.290	-0.370	0.005	-0.315	-0.254
11	-0.103	-0.203	0.152	-0.059	-0.249	-0.421	-0.235	-0.078	-0.189	-0.261	0.410	-0.113	-0.120	-0.191	0.148	-0.286	-0.365	-0.339	-0.314	-0.340
12	-0.099	-0.203	0.163	-0.053	-0.256	-0.418	-0.243	-0.072	-0.178	-0.244	0.414	-0.114	-0.195	-0.193	0.145	-0.286	-0.363	-0.344	-0.337	-0.345
13	-0.110	-0.201	0.165	-0.054	-0.256	-0.418	-0.229	-0.090	-0.155	-0.211	0.178	-0.079	-0.193	-0.186	0.153	-0.287	-0.365	-0.345	-0.312	-0.324
14	-0.100	-0.200	0.164	-0.053	-0.256	-0.419	-0.243	-0.074	-0.175	-0.193	0.160	-0.051	-0.209	-0.193	0.144	-0.286	-0.362	-0.344	-0.336	-0.337
15	-0.108	-0.174	-0.178	-0.056	-0.241	0.433	-0.270	-0.052	-0.168	-0.274	0.438	-0.126	-0.191	-0.187	0.151	-0.288	-0.365	-0.320	-0.322	-0.330
16	-0.107	-0.174	-0.177	-0.058	-0.238	0.424	-0.257	-0.058	-0.177	-0.266	0.435	-0.126	-0.191	-0.187	0.151	-0.288	-0.365	-0.320	-0.320	-0.331
17	-0.114	-0.252	0.451	-0.113	-0.258	-0.431	-0.241	-0.077	-0.196	-0.261	0.432	-0.125	-0.177	-0.183	0.159	-0.289	-0.366	-0.323	-0.312	-0.311
18	-0.102	-0.256	0.428	-0.134	-0.275	-0.427	-0.264	-0.054	-0.203	-0.256	0.436	-0.136	-0.180	-0.189	0.144	-0.288	-0.375	-0.311	-0.319	-0.318
19	-0.120	-0.203	-0.109	0.121	-0.242	-0.189	0.125	0.276	-0.203	-0.220	-0.092	0.095	-0.213	-0.189	0.169	-0.291	-0.367	-0.373	-0.338	-0.369
20	-0.109	-0.243	-0.077	0.044	-0.250	-0.220	0.121	0.262	-0.188	-0.205	0.131	0.129	-0.235	-0.180	0.174	-0.294	-0.368	0.275	-0.338	-0.296
21	-0.107	-0.235	-0.101	0.070	-0.245	-0.217	0.117	0.264	-0.193	-0.199	0.122	0.137	-0.234	-0.179	0.172	-0.294	-0.368	0.017	-0.339	-0.299

A.2. Análisis de componentes principales

Tabla A-3.: Resultados del análisis de componentes principales para las cargas parciales Gasteiger-Marsili.

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
Desviación estándar	0,1723020	0,07814969	0,05081578	0,04243505	0,02823416
Proporción de la varianza explicada	0,7139688	0,14687677	0,06210060	0,04330599	0,01917116
Proporción de la varianza acumulada	0,7139688	0,86084552	0,92294612	0,96625211	0,98542327
	Comp.6	Comp.7	Comp.8	Comp.9	Comp.10
Desviación estándar	0,017321809	0,013393048	0,009996509	0,0039924371	0,003152025
Proporción de la varianza explicada	0,007215811	0,004313775	0,002403230	0,0003833318	0,000238934
Proporción de la varianza acumulada	0,992639083	0,996952858	0,999356088	0,9997394200	0,999978354
	Comp.11	Comp.12	Comp.13	Comp.14	Comp.15
Desviación estándar	9,295892e-04	1,822831e-04	4,710699e-05	2,218491e-05	7,270351e-10
Proporción de la varianza explicada	2,078169e-05	7,990819e-07	5,336657e-08	1,183624e-08	1,271187e-17
Proporción de la varianza acumulada	9,999991e-01	9,999999e-01	1,000000e+00	1,000000e+00	1,000000e+00
	Comp.16	Comp.17	Comp.18	Comp.19	Comp.20
Desviación estándar	5,571590e-10	2,21903e-10	1,616008e-10	1,364682e-17	7,875836e-18
Proporción de la varianza explicada	7,465466e-18	1,18420e-18	6,280375e-19	4,478797e-33	1,491736e-33
Proporción de la varianza acumulada	1,000000e+00	1,000000e+00	1,000000e+00	1,000000e+00	1,000000e+00

Tabla A-4.: Resultados del análisis de componentes principales para las cargas parciales Mulliken.

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
Desviación estándar	0,5179054	0,15926277	0,13096465	0,11125675	0,07404161
Proporción de la varianza explicada	0,80014833	0,07566555	0,05116557	0,03692516	0,01635390
Proporción de la varianza acumulada	0,80014833	0,87581382	0,92697939	0,96390455	0,98025845
	Comp.6	Comp.7	Comp.8	Comp.9	Comp.10
Desviación estándar	0,064111170	0,03128497	0,022593030	0,020752059	0,0160944777
Proporción de la varianza explicada	0,01226152	0,00291972	0,001522715	0,001284671	0,0007727222
Proporción de la varianza acumulada	0,99251997	0,99543969	0,996962402	0,998247074	0,9990197961
	Comp.11	Comp.12	Comp.13	Comp.14	Comp.15
Desviación estándar	0,0116630018	0,0083952891	0,0069970883	5,727630e-03	4,200098e-03
Proporción de la varianza explicada	0,0004057797	0,0002102524	0,0001460509	9,786322e-05	5,262457e-05
Proporción de la varianza acumulada	0,9994255758	0,9996358282	0,9997818791	9,998797e-01	9,999324e-01
	Comp.16	Comp.17	Comp.18	Comp.19	Comp.20
Desviación estándar	3,648163e-03	2,714136e-03	1,185177e-03	7,687206e-04	2,814386e-05
Proporción de la varianza explicada	3,970253e-05	2,197519e-05	4,190214e-06	1,762815e-06	2,362854e-09
Proporción de la varianza acumulada	9,999721e-01	9,999940e-01	9,999982e-01	1,000000e+00	1,000000e+00

Tabla A-5.: Acumulado de la suma de los cuadrados del puntaje de factores de cada variable obtenidos en el análisis de componentes principales en el estudio de cargas parciales Gasteiger-Marsili.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
C-1	0.00	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.64	0.64	0.66	0.66	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-2	0.04	0.52	0.54	0.54	0.91	0.92	0.93	0.93	0.93	0.94x	0.94	0.98	0.98	0.98	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-3	0.10	0.24	0.25	0.78	0.84	0.90	0.91	0.91	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-4	0.01	0.01	0.05	0.10	0.17	0.19	0.19	0.20	0.28	0.97	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-5	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04	0.05	0.05	0.05	0.08	0.09	0.48	0.51	0.81	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-6	0.17	0.17	0.19	0.19	0.20	0.64	0.65	0.73	0.92	0.92	0.93	0.93	0.93	0.93	0.95	0.95	0.99	1.00	1.00	1.00
C-7	0.04	0.05	0.05	0.05	0.13	0.13	0.18	0.18	0.57	0.67	0.88	0.88	0.89	0.90	0.90	0.90	0.93	1.00	1.00	1.00
C-8	0.07	0.30	0.30	0.65	0.79	0.87	0.87	0.87	0.89	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.95	0.95	1.00	1.00	1.00	1.00
C-9	0.00	0.02	0.02	0.06	0.07	0.07	0.52	0.56	0.73	0.74	0.75	0.75	0.76	0.77	0.88	0.88	0.95	1.00	1.00	1.00
C-10	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.09	0.40	0.44	0.44	0.49	0.49	0.54	0.58	0.70	0.70	0.77	1.00	1.00	1.00
C-11	0.29	0.36	0.73	0.73	0.86	0.88	0.88	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.97	0.97	0.99	1.00	1.00	1.00
C-12	0.05	0.05	0.06	0.06	0.08	0.10	0.11	0.24	0.25	0.33	0.33	0.33	0.38	0.42	0.64	0.64	0.99	1.00	1.00	1.00
C-13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.03	0.24	0.24	0.24	0.35	0.45	0.47	0.47	0.51	1.00	1.00	1.00
C-14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.54	0.92	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.29	0.46	0.46	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	1.00
C-17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.83	1.00
C-18	0.20	0.20	0.69	0.69	0.84	0.92	0.92	0.92	0.93	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-19	0.00	0.02	0.02	0.03	0.04	0.09	0.47	0.50	0.53	0.54	0.54	0.54	0.55	0.55	0.67	0.67	0.95	1.00	1.00	1.00
C-20	0.00	0.01	0.05	0.05	0.05	0.16	0.17	0.54	0.55	0.57	0.58	0.58	0.59	0.60	0.88	0.88	0.92	1.00	1.00	1.00

Tabla A-6.: Acumulado de la suma de los cuadrados del puntaje de factores de cada variable obtenidos en el análisis de componentes principales en el estudio de cargas parciales Mulliken.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
C-1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.05	0.05	0.06	0.21	0.22	0.48	0.55	0.92	0.99	1.00
C-2	0.03	0.60	0.65	0.79	0.98	0.98	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-3	0.07	0.16	0.96	0.96	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-4	0.02	0.02	0.03	0.04	0.05	0.05	0.10	0.25	0.66	0.83	0.83	0.85	0.86	0.88	0.91	0.93	0.98	1.00	1.00	1.00
C-5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.09	0.86	0.86	0.86	0.90	0.94	0.97	0.98	0.98	0.99	1.00
C-6	0.34	0.36	0.37	0.37	0.39	0.64	0.66	0.66	0.69	0.69	0.69	0.70	0.89	0.92	0.92	0.98	0.98	0.98	0.98	1.00
C-7	0.12	0.12	0.13	0.13	0.14	0.28	0.30	0.33	0.33	0.36	0.36	0.39	0.74	0.81	0.86	0.87	0.98	0.99	0.99	1.00
C-8	0.07	0.18	0.19	0.29	0.74	0.87	0.89	0.90	0.94	0.97	0.97	0.98	0.99	0.99	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00
C-9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.42	0.57	0.59	0.68	0.69	0.69	0.80	0.87	0.89	0.98	1.00	1.00	1.00	1.00
C-10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.10	0.28	0.38	0.51	0.55	0.59	0.59	0.66	0.84	0.89	0.99	1.00	1.00	1.00
C-11	0.18	0.24	0.34	0.47	0.69	0.94	0.95	0.95	0.95	0.98	0.99	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-12	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.31	0.38	0.60	0.60	0.63	0.65	0.65	0.80	0.95	0.95	0.97	0.99	1.00
C-13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.02	0.06	0.08	0.16	0.19	0.30	0.30	0.36	0.46	0.67	0.96	1.00
C-14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.33	0.33	0.58	0.79	0.80	0.93	0.99	1.00	1.00
C-15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.19	0.19	0.19	0.61	0.76	0.80	0.82	0.82	0.98	0.98	1.00	1.00
C-16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.04	0.05	0.05	0.05	0.10	0.17	0.39	0.68	1.00
C-17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.05	0.05	0.06	0.08	0.08	0.17	0.46	1.00
C-18	0.12	0.27	0.27	0.87	0.89	0.99	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
C-19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.24	0.27	0.27	0.27	0.29	0.33	0.37	0.52	0.77	0.96	0.98	0.98	1.00	1.00
C-20	0.00	0.00	0.00	0.01	0.05	0.17	0.30	0.45	0.59	0.75	0.81	0.81	0.82	0.84	0.85	0.86	1.00	1.00	1.00	1.00

A.3. Dendrogramas de cargas parciales para la serie inicial de 21 cembranos incluyendo los compuestos propuestos por funcionalización

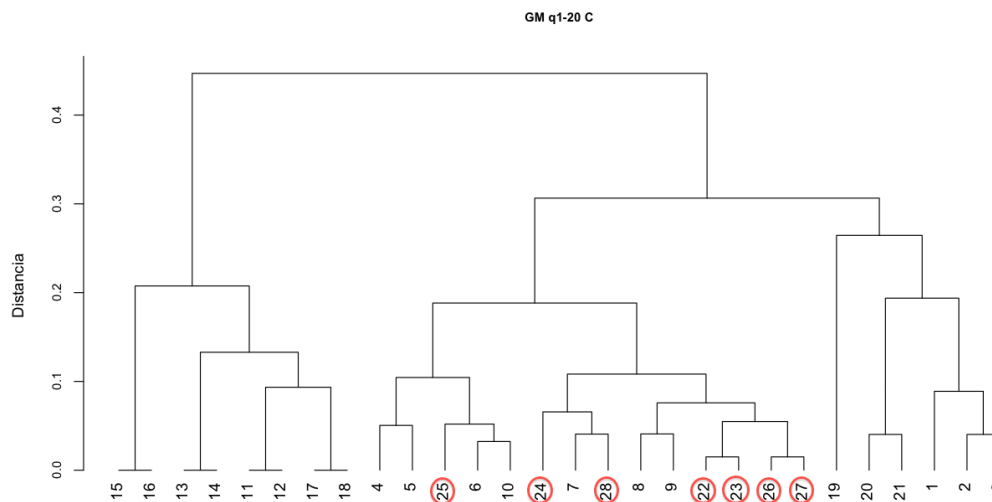


Figura A-1.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los 20 carbonos de la estructura en común de los cembranos.

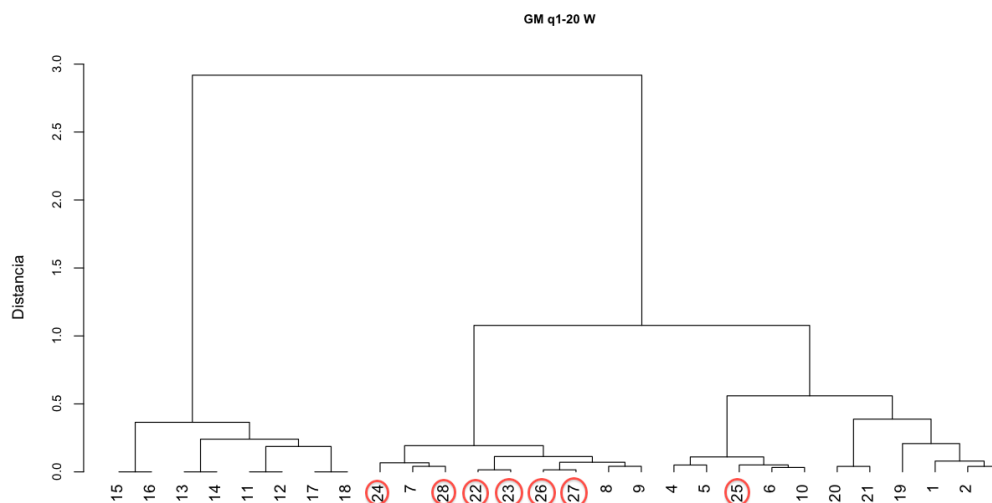


Figura A-2.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los 20 carbonos de la estructura en común de los cembranos.

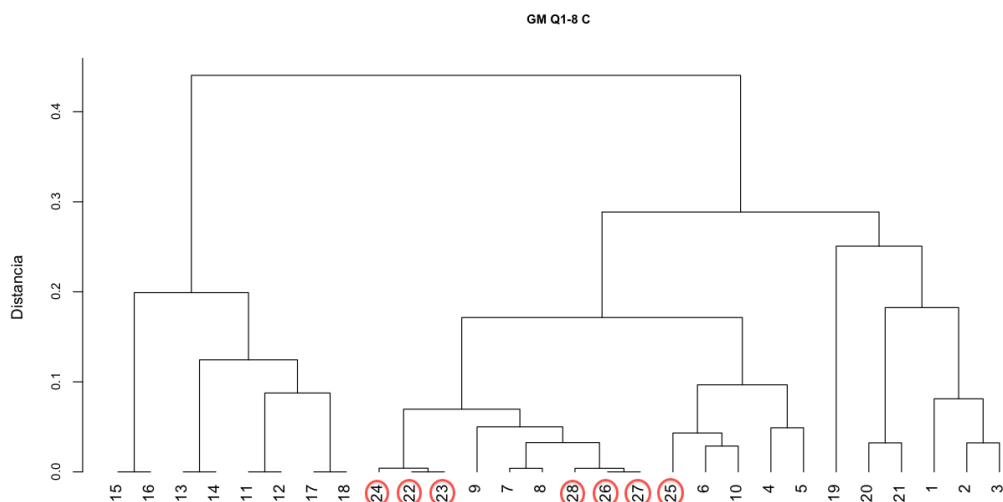


Figura A-3.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

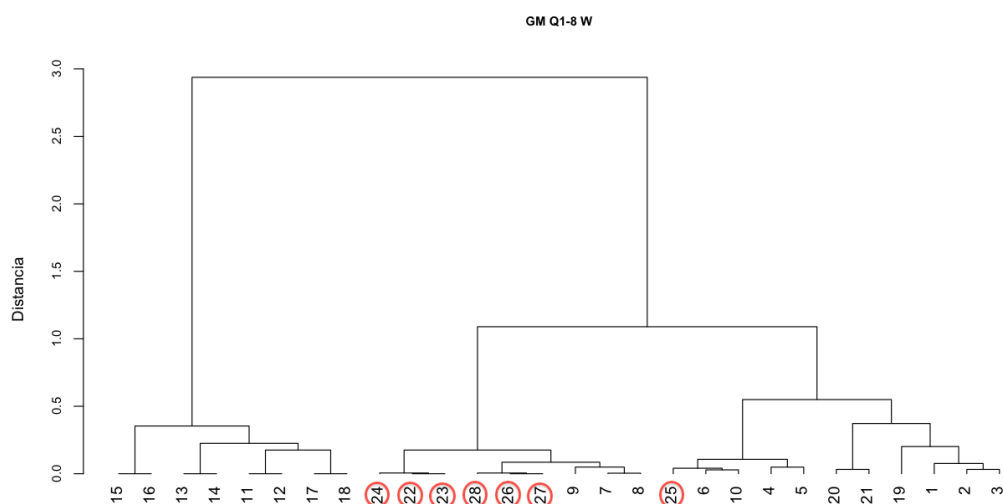


Figura A-4.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

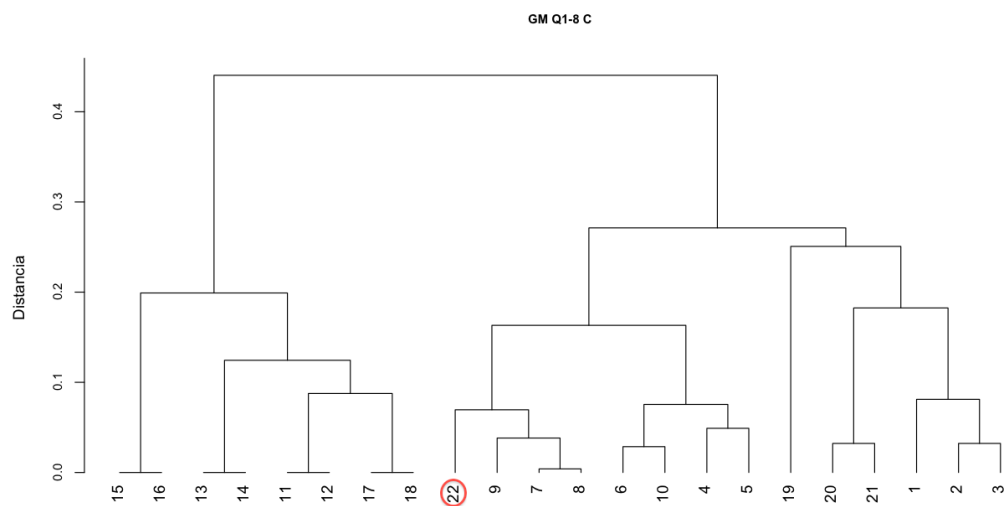


Figura A-5.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

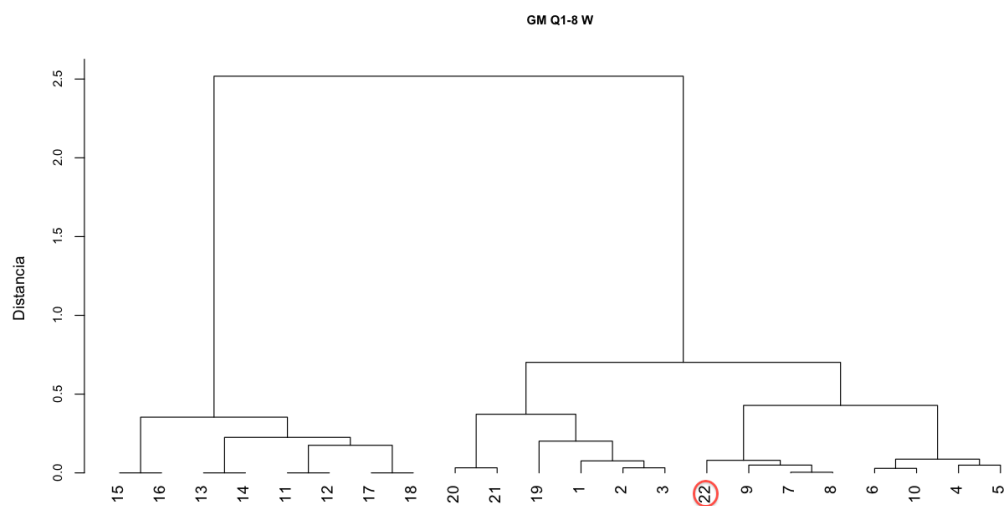


Figura A-6.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

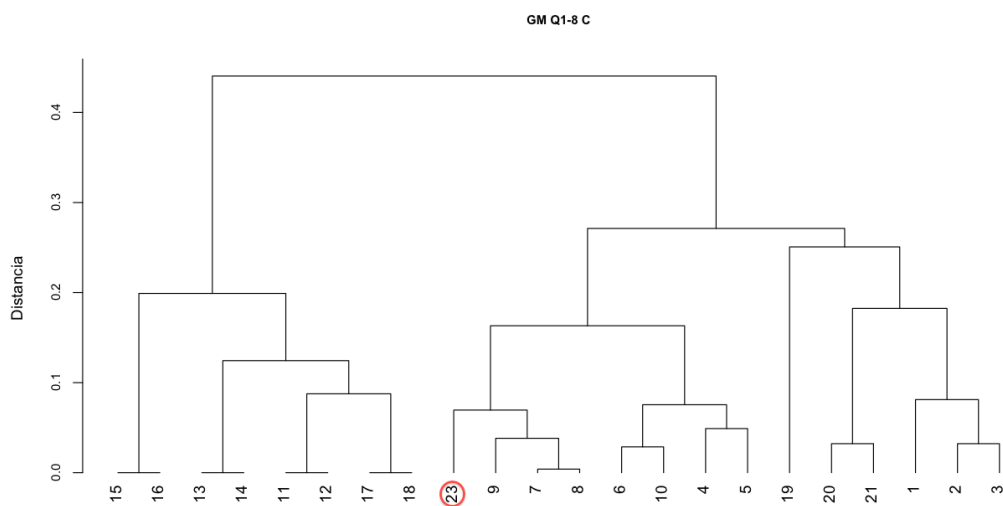


Figura A-7.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

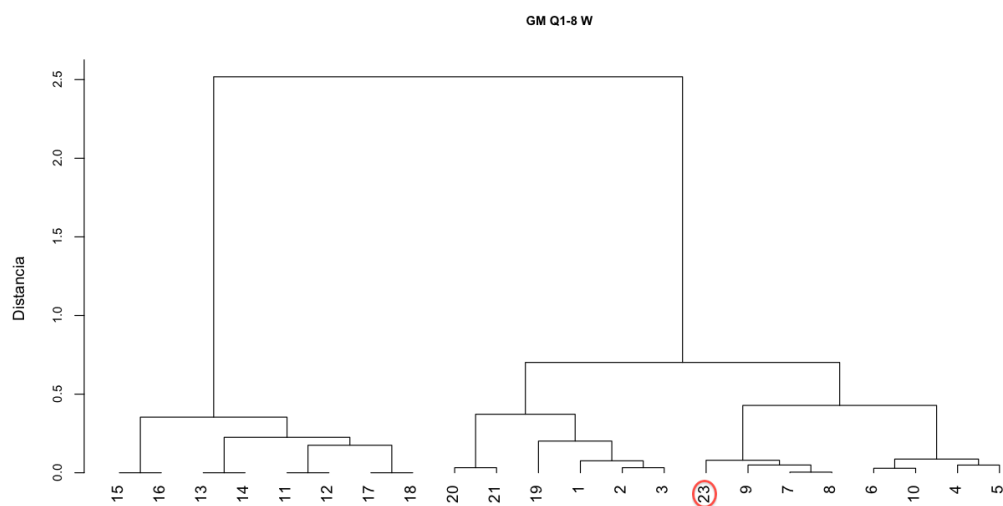
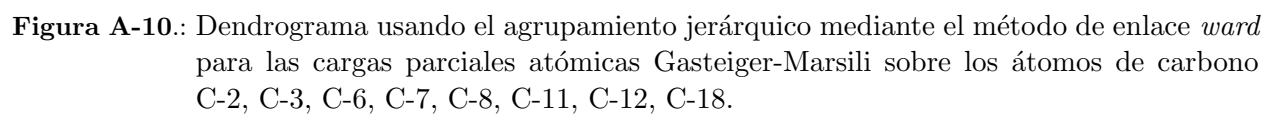
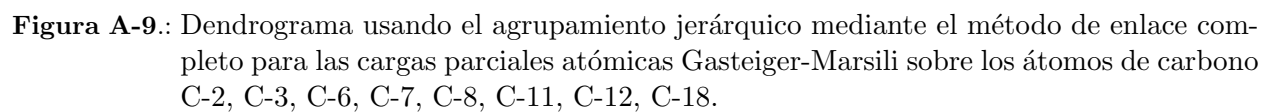


Figura A-8.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.



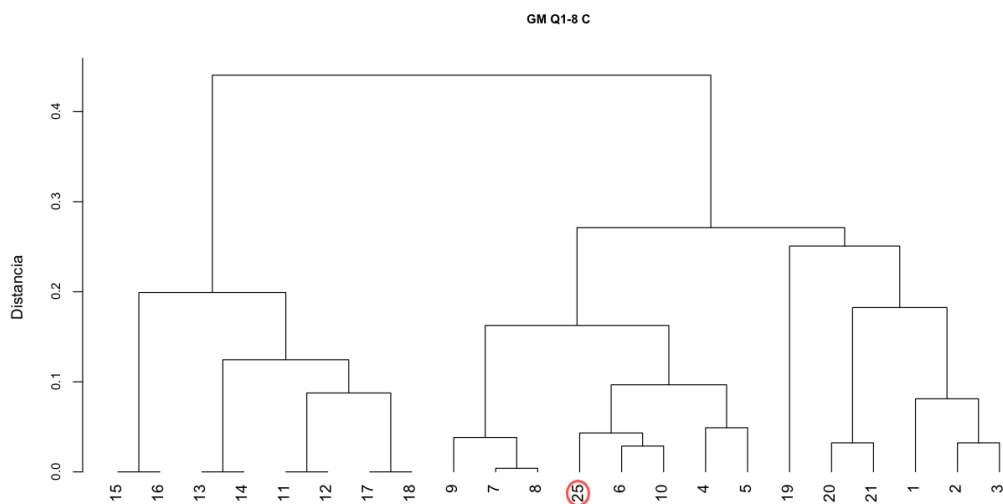


Figura A-11.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

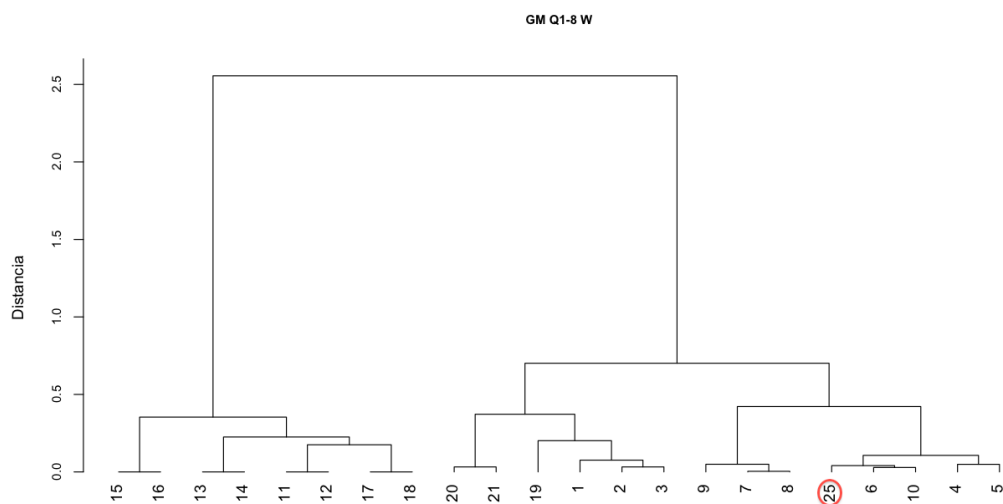


Figura A-12.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

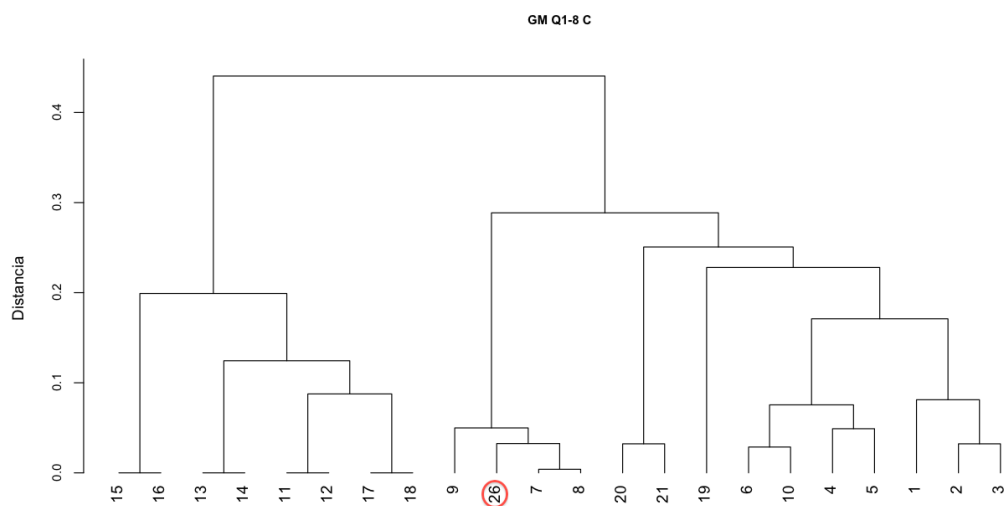


Figura A-13.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

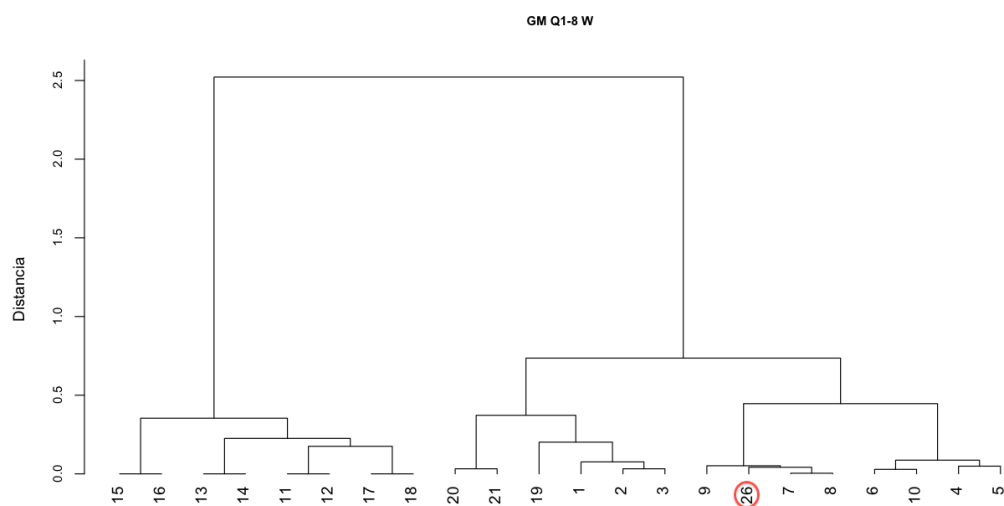


Figura A-14.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

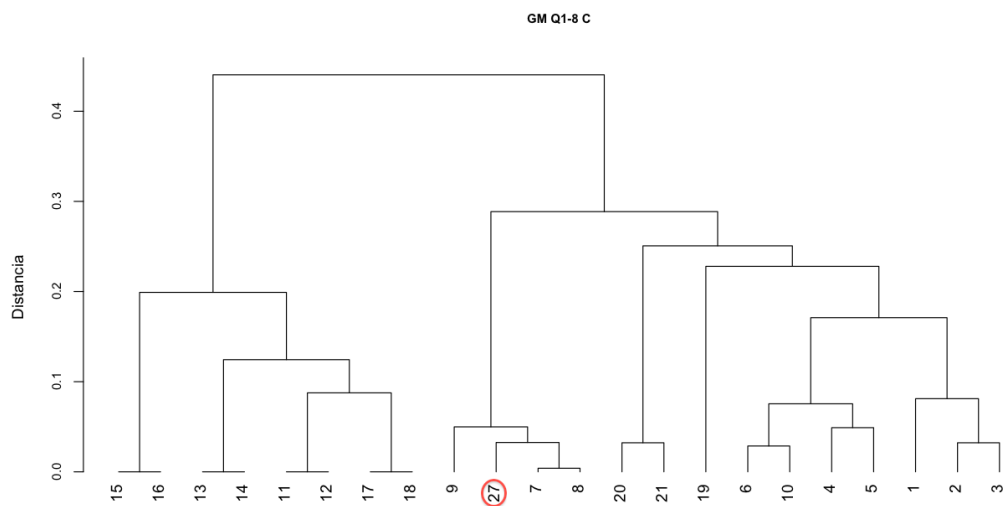


Figura A-15.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

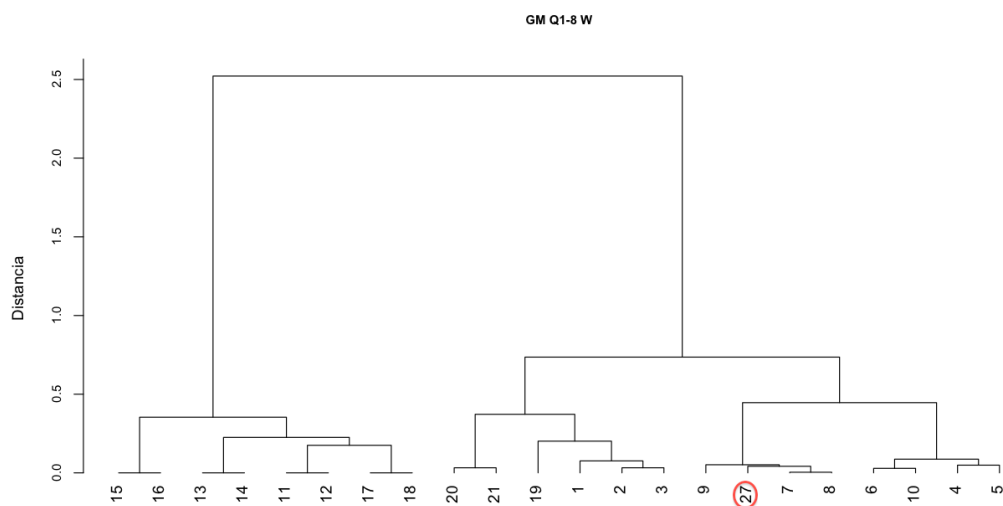


Figura A-16.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

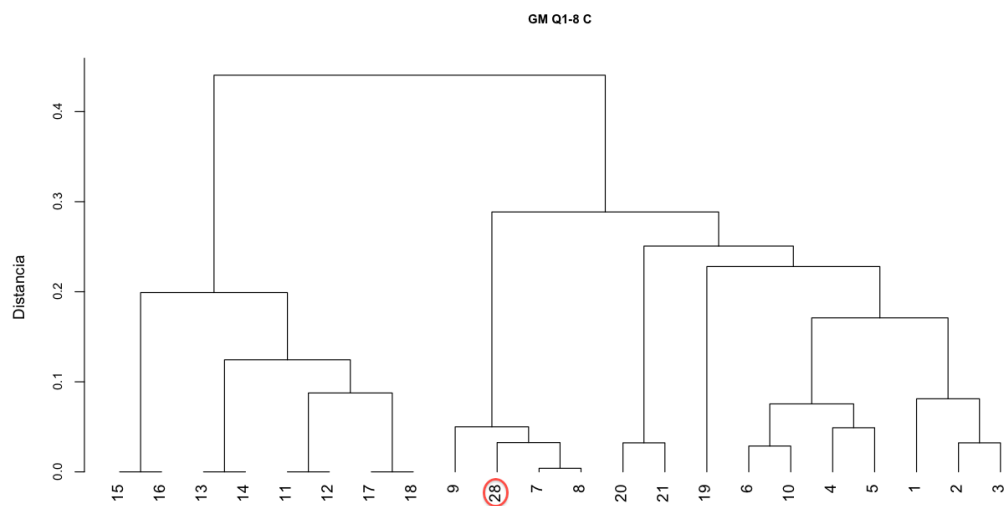


Figura A-17.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace completo para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

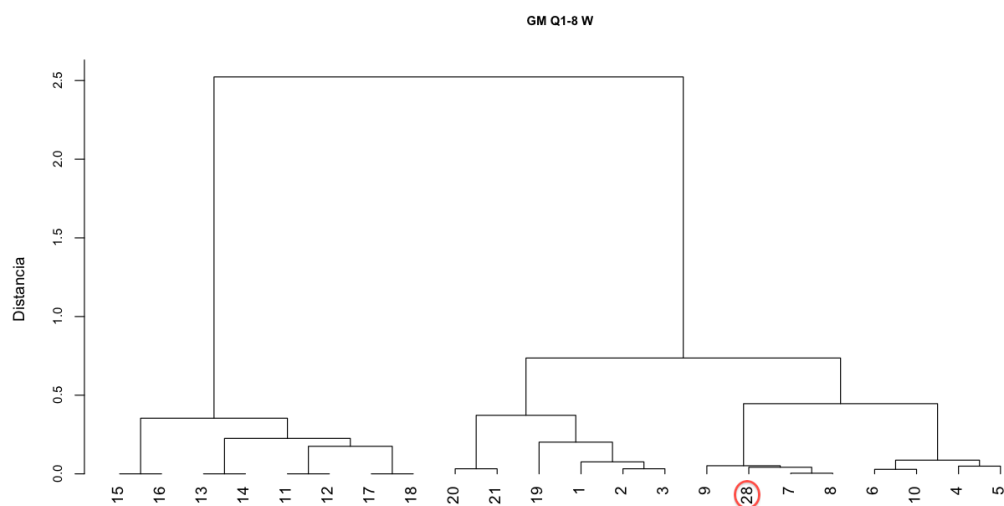


Figura A-18.: Dendrograma usando el agrupamiento jerárquico mediante el método de enlace *ward* para las cargas parciales atómicas Gasteiger-Marsili sobre los átomos de carbono C-2, C-3, C-6, C-7, C-8, C-11, C-12, C-18.

Referencias

- Abarzua, S., y Jakubowski, S. (1995, enero). Biotechnological investigation for the prevention of biofouling. I. Biological and biochemical principles for the prevention of biofouling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 123, 301-312.
- Abdi, H., y Williams, L. (2010). Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), 433-459. Descargado de <http://dx.doi.org/10.1002/wics.101>
- Bowen, J. P., y Allinger, N. L. (2007). *Molecular Mechanics: The Art and Science of Parameterization*. John Wiley & Sons, Inc.
- Callow, M. E., y Fletcher, R. L. (1994). The influence of low surface energy materials on bioadhesion – a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 34(3-4), 333-348.
- Cramer, C. J. (2004). *Essentials of Computational Chemistry Second Edition* (Second Edition). Minneapolis, USA: John Wiley & Sons Ltd.
- Flemming, H.-C., Griebel, T., y Schaule, G. (1996). Antifouling strategies in technical systems – A short review. *Water Science and Technology*, 34(5-6), 517-524.
- Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., y cols. (s.f.). *Gaussian 03, Revision C.02*. (Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004)
- Fusetani, N. (2011, febrero). Antifouling marine natural products. *Natural product reports*, 28(2), 400-410.
- Gadhe, C. G., Madhavan, T., Kothandan, G., Lee, T.-B., Lee, K., y Cho, S.-J. (2011, mayo). Various Partial Charge Schemes on 3D-QSAR Models for P-gp Inhibiting Adamantyl Derivatives. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(5), 1604-1612.
- Galabov, B., Cheshmedzhieva, D., Ilieva, S., y Hadjieva, B. (2004). Computational Study of the Reactivity of N-Phenylacetamides in the Alkaline Hydrolysis Reaction. *J. Phys. Chem A.*, 108, 11457-11462.
- Galabov, B., Ilieva, S., Hadjieva, B., Atanasov, Y., y Schaefer, H. F. (2008, julio). Predicting reactivities of organic molecules. Theoretical and experimental studies on the aminolysis of phenyl acetates. *The journal of physical chemistry. A*, 112(29), 6700-7.
- Gasteiger, J., y Marsili, M. (1980). Iterative partial equalization of orbital electronegativity a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, 36(22), 3219-3228.
- Grewal, B. K., y Sobhia, M. E. (2012, diciembre). Theoretical investigations on maleimide and its indolyl derivatives: Rational drug design approach for PKC β II inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1029, 35-44.
- Hackett, J. C. (2010). Chemical Reactivity Theory: A Density Functional View. *Journal of the American Chemical Society*, 132(21), 7558-7558.
- Ishii, M., Jorge, S. a. D., Oliveira, A. A. de, Palace-Berl, F., Sonehara, I. Y., Pasqualoto, K. F. M., y cols. (2011, noviembre). Synthesis, molecular modeling and preliminary

- biological evaluation of a set of 3-acetyl-2,5-disubstituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole as potential antibacterial, anti-Trypanosoma cruzi and antifungal agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 19(21), 6292–6301.
- Jain, A. K., Murty, M. N., y Flynn, P. J. (1999). Data Clustering : A Review. *ACM Computing Surveys*, 31(3), 264–323.
- Lee, I., y Yang, J. (2009). 2.27 - Common Clustering Algorithms. En *Comprehensive chemometrics* (pp. 577–618). Oxford: Elsevier.
- Marin, R. M., Aguirre, N. F., y Daza, E. E. (2008). Graph Theoretical Similarity Approach To Compare Molecular Electrostatic Potentials. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 48(1), 109-118.
- Mittal, R. R., Harris, L., Mckinnon, R. A., y Sorich, M. J. (2009). Partial Charge Calculation Method Affects CoMFA QSAR Prediction Accuracy. *J. Chem. Inf. Model.*, 49, 704–709.
- Mulliken, R. S. (1955). Electronic Population Analysis on LCAO[Single Bond]MO Molecular Wave Functions. I. *The Journal of Chemical Physics*, 23(10), 1833–1840.
- Murray, J. S., y Politzer, P. (2011). The electrostatic potential: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(2), 153-163.
- Murtagh, F., y Contreras, P. (2012). Algorithms for hierarchical clustering: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery*, 2(1), 86–97. Descargado de <http://dx.doi.org/10.1002/widm.53>
- Newman, D. J., y Cragg, G. M. (2012). Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335.
- Omae, I. (2003, septiembre). General aspects of tin-free antifouling paints. *Chemical reviews*, 103(9), 3431–3448.
- Parr, R. G., y Pearson, R. G. (1983). Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *Journal of the American Chemical Society*, 105(26), 7512-7516.
- Parr, R. G., Szentpály, L. V., y Liu, S. (1999). Electrophilicity Index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922-1924.
- Pearson, R. G., y Pearson, R. G. (1973). *Hard and soft acids and bases*. Edited by Ralph G. Pearson. Stroudsburg, Pa: Dowden, Hutchinson & Ross.
- Saleh, B. a., Essa, A. H., Al-Shawi, S. a.O., y Jalbout, A. F. (2009, septiembre). Correlation analysis of the substituent electronic effects on the Mulliken charge. Resonance and field effects of substituents at para-substituted styrenyl fullerene. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 909(1-3), 107–110.
- Sliwoski, G., Lowe, E. W., Butkiewicz, M., y Meiler, J. (2012, enero). BCL::EMAS - Enantioselective Molecular Asymmetry Descriptor for 3D-QSAR. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(8), 9971–9989.
- Stewart, R. F. (1979). On the mapping of electrostatic properties from bragg diffraction data. *Chemical Physics Letters*, 65(2), 335-342.
- Team, R. C. (2012). R: A Language and Environment for Statistical Computing [Manual de

- software informático]. Vienna, Austria. Descargado de <http://www.R-project.org/> (ISBN 3-900051-07-0)
- Tello, E., Castellanos, L., Arevalo-Ferro, C., y Duque, C. (2009, septiembre). Cembranoid diterpenes from the Caribbean sea whip *Eunicea knighti*. *Journal of natural products*, 72(9), 1595–1602.
- Tello, E., Castellanos, L., Arévalo-Ferro, C., y Duque, C. (2012, septiembre). Disruption in Quorum-Sensing Systems and Bacterial Biofilm Inhibition by Cembranoid Diterpenes Isolated from the Octocoral *Eunicea knighti*. *Journal of natural products*, 75(9), 1637–42.
- Tello, E., Castellanos, L., Arevalo-Ferro, C., Rodríguez, J., Jiménez, C., y Duque, C. (2011, noviembre). Absolute stereochemistry of antifouling cembranoid epimers at C-8 from the Caribbean octocoral *Pseudoplexaura flagellosa*. Revised structures of plexaurolones. *Tetrahedron*, 67(47), 9112–9121.
- Truhlar, D. G., Politzer, P., y Society, A. C. (1981). *Chemical applications of atomic and molecular electrostatic potentials: reactivity, structure, scattering, and energetics of organic, inorganic, and biological systems*. New York: Plenum Press New York.
- Yebra, D. M., Kiil, S., y Dam-Johansen, K. (2004, jul). Antifouling technology, past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, 50(2), 75–104.